

Agilent サンプリーク QuEChERS EN キットを使用した LC/MS/MS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 19808
USA

概要

本アプリケーションノートでは、QuEChERS (quick (迅速)、easy (簡単)、cheap (低価格)、effective (効果的)、rugged (高耐久性)、safe (安全)) EN サンプル前処理法を使用した、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。ホウレン草は、色素を多く含みますので、グラファイトカーボンブラック (GCB) を 7.5 mg/mL 含む色素の多い果実と野菜用の EN 分散 SPE キットを選択し、ACN 抽出液をこのキットに追加します。ホウレン草抽出物に含まれる標的農薬を、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。GCB は、平面構造を持つ農薬を抽出する際に大きなマイナスの効果があると報告されています。しかし、EN 分散 SPE キットに含まれる GCB が少量の場合は、平面構造を持つ農薬に対する GCB の影響は無視でき、許容範囲の定量結果が得られることがわかりました。このアプリケーションで得られたホウレン草に含まれる農薬に対する 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、60 ~ 99 % (平均 85.4 %) で、RSD は 11 % 未満 (平均 5.5 %) でした。



Agilent Technologies

はじめに

QuEChERS EN メソッドは、特にヨーロッパにおいて、食品に含まれる農薬分析に広く利用されてきました。[1、2] このメソッドでは、アセトニトリル抽出を行った後、無水硫酸マグネシウム ($MgSO_4$)、NaCl および緩衝剤 (バッファ) のクエン酸塩を使用して、サンプルを塩析し、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ためのグラファイトカーボンブラック (GCB)、脂質およびワックスをさらに除去するための 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。そのため、本アプリケーションでは、色素の多い果実および野菜用の EN 分散 SPE キットを選択しました。このキットでは、25 mg の PSA および 150 mg の硫酸マグネシウム、7.5 mg の GCB を ACN 抽出液 1 mL に加えます。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、ホウレン草のように色素を含むマトリックスのクリーンアップに極めて有効です。クリーンアップの効率率は、使用する GCB の量によります。GCB の使用量を増やすと、平面構造を持つ分子がより多く吸着するため、よりクリーンなサンプルが得られます。色素を多く含むマトリックスをクリーニングする際の EN メソッドと AOAC メソッドの大きな違いは、分散 SPE の手順で使用する GCB の量です。AOAC メソッドでは GCB を比較的多く使用しますが (ACN 抽出液 1 mL あたり GCB 50 mg)、EN メソッドでは、はるかに少ない量の GCB を使用します (色素のある果実と野菜の場合、ACN 抽出液 1 mL あたり GCB 2.5 mg、または色素の多い果実と野菜の場合、ACN 抽出液 1 mL あたり GCB 7.5 mg)。平面構造を持つ農薬の抽出に与える GCB の影響は、使用するメソッドによって異なります。AOAC メソッドでは、かなりきれいな最終サンプルが得られますが、平面構造を持つ農薬が大きく失われます。対照的に、EN メソッドでは、平面構造を持つ農薬がほとんどあるいはまったく失われませんが、サンプルがより複雑になります。

以前、分散 SPE 手順にトルエンを添加した AOAC メソッドの場合、ホウレン草など色素を含むマトリックス中の平面構造を持つ農薬の抽出効率が大きく向上することを説明しました。[3] 続いて、修正したメソッド (トルエン添加あり) とオリジナルの AOAC メソッド (トルエン添加なし) を組み合わせて使用し、ホウレン草に含まれる農薬の分析に関してサンプリーク QuEChERS AOAC キットの性能を示しました。[4、5] 本実験で

は、13 種類の農薬を使用して、Agilent EN バッファあり抽出キット (部品番号 5982-5650) および色素の多い果実と野菜用のサンプリーク QuEChERS EN 分散 SPE キット (部品番号 5982-5321 および 5982-5356) の性能を評価しました。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) のものです。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) のものです。農薬標準試料と内部標準 (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エストチェスター)、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、pH メーターでモニタしながら氷酢酸で pH を 5 に調整し、1 M 酢酸アンモニウム pH 5 保存液を作成しました。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 酢酸アンモニウム pH 5 保存液を加え、十分に混合し、5 mM 酢酸アンモニウムを溶かした 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 酢酸アンモニウム 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 分かけて、5 mM 酢酸アンモニウムを含む ACN 溶液を用意しました。1 mL のギ酸を 100 mL の ACN に加えて十分混合し、1 % ギ酸を含む ACN 溶液を用意しました。

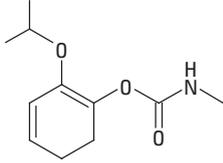
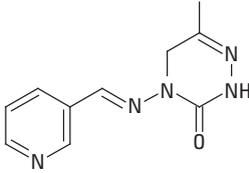
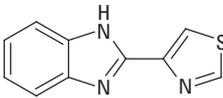
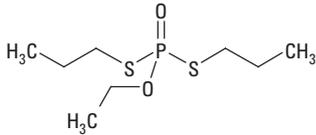
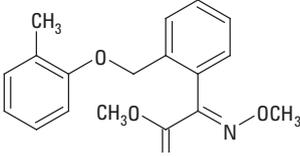
標準試料および内部標準 (IS) 原液 (0.5 mg/mL のカルベンダジム以外、すべて 2.0 mg/mL) は、それぞれ、メタノール、0.1 % ギ酸を含む ACN 溶液、または DMSO 中で作成し、-20 °C で保存しました。1、5 および 20 $\mu g/mL$ の 3 種類の QC スパイク溶液を、1:1 の ACN/ H_2O (ギ酸 0.1 %) で毎日新たに用意しました。マトリックスブランク抽出液の検量線を用意するため、ギ酸 0.1 % を含む 1:1 ACN/ H_2O 中の標準スパイク溶液 10 $\mu g/mL$ を希釈して作成しました。IS スパイク溶液として、15 $\mu g/mL$ の TPP を溶かした 1:1 の ACN/ H_2O (ギ酸 0.1 %) 溶液を作成しました。

表 1. 農薬の化学的情報と規制情報 [6-8]

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 [6-8]

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
クレソキシムメチル	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、これより高い場合があります。

装置と薬剤

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 サンプリーク QuEChERS EN 抽出キット、部品番号 5982-5650、および色素の多い果実と野菜用の Agilent サンプリーク QuEChERS EN SPE キット、部品番号 5982-5321 および 5982-5356 (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 メソッドを使用しました。[9]

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/H ₂ O 中 5 mM 酢酸アンモニウム、pH 5.0 B、ACN 内の 5 mM 酢酸アンモニウム、pH 5.0		
ニードル洗浄:	1:1:1 ACN/メタノール/IPA/H ₂ O、0.2 % ギ酸を含む		
グラジエント:	時間	アセトニトリルの混合比	流量 (mL/min)
	0	20	0.3
	0.5	20	0.3
	8.0	100	0.3
	10.0	100	0.3
	13.0	終了	
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。[9] ホウレン草の場合に使用する作業手順は、リンゴの場合と似ています。ただし、一般的な果実と野菜用の分散 SPE キットではなく、色素の多い果実と野菜用の分散 SPE キットを使用する点が異なります。

まず、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 10 g (± 0.1 g) を 50 mL の遠心分離管に入れます。必要に応じてサンプルに適切な QC スパイク溶液 (100 μL) を添加し、続いて 66.7 μL の IS 溶液 (15 μg/mL の TPP) を添加します。サンプルを 30 秒攪拌した後、ディスペンサを使用して、10 mL の ACN 溶液を各試験管に加えます。再び試験管にキャップをし、1 分間手で振とうします。無水 MgSO₄ 4 g、NaCl 1 g、Na₃ クエン酸塩 1 g、および Na₂H クエン酸 1.5 水和物 0.5 g を含む Agilent サンプリーク QuEChERS EN 抽出塩類/パッケージ (部品番号 5982-5650) を各試験管に直接加えます。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 の上部層を 1 mL ずつ Agilent サンプリーク QuEChERS EN 分散 SPE の 2 mL 試験管 (部品番号 5982-5321) に移します。または、6 mL ずつ Agilent サンプリーク QuEChERS EN 分散 SPE の 15 mL 試験管 (部品番号 5982-5356) に移します。2 mL の試験管には、25 mg の PSA、150 mg の無水硫酸マグネシウム、および 7.5 mg の GCB が含まれています。また、15 mL の試験管には、150 mg の PSA、900 mg の無水硫酸マグネシウム、および 45 mg の GCB が含まれています。試験管に固くキャップをし、1 分間攪拌します。2 mL の試験管は、微量遠心分離機を使用して、13,000 rpm で 2 分間遠心分離します。15 mL の試験管は、通常の遠心分離機を使用して、4000 rpm で 5 分間遠心分離します。200 μL の抽出液をオートサンプリングバイアルに移します。1 % のギ酸を含む ACN 溶液 10 μL をすぐに加えます。次に、800 μL の水または適切な標準溶液 (水で希釈したもの) を加えます。サンプルにキャップをして十分に攪拌してから、LC/MS/MS 分析にかかけます。

表 2. LC/GC/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)	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)	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

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す。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効率が向上します。GCB を含むメソッドの除去効率は、GCB の量に関係しています。GCB の使用量を増やすと、処理後のマトリックスがよりきれいになり、最終サンプルに含まれるマトリックス干渉物が減少します。また、GCB は平面構造を持つ農薬を除去しますが、EN 分散 SPE の場合は、使用する GCB の量が少ないため平面構造を持つ農薬への影響は小さくなります。色素のある農作物用の EN メソッドでは、AOAC メソッドと比べ、ずっと少ない量の GCB を分散 SPE 手順で使用します。ニンジンやロメインレタスなどの標準的な色素含有食品の場合、ACN 抽出液 1 mL あたり 2.5 mg の GCB を使用します。ハウレン草または赤ピーマンのように色素を多く含

む食品の場合は、ACN 抽出液 1 mL あたり 7.5 mg の GCB を使用します。[1]

その推奨に従い、本研究のハウレン草については、色素の多い果実と野菜用の EN 分散 SPE キットを使用しました。高濃度色素向けのキットとはいえ、EN メソッドで使用する GCB は、AOAC メソッドの場合 (ACN 抽出液 1 mL あたり 50 mg の GCB を使用) と比較すると依然として少ない量です。そのため、外見上、EN メソッドによるマトリックススクリーンアップの効率は、AOAC メソッドよりもずっと劣ります。EN メソッドで処理した最終サンプルは、依然として濃い緑色をしています。一方、以前 AOAC メソッドで処理したときの最終サンプルは、ほぼ無色透明でした。マトリックスブランクの違いは、図 1 に示した $\lambda = 254 \text{ nm}$ の UV クロマトグラムにも現れています。EN メソッドで処理したマトリックスブランクには干渉物ピークがより多く現れます。また、カラムまたはイオン源に不純物がよ

り多く蓄積している可能性があり、カラムと MS 機器に悪影響をおよぼす恐れがあります。しかし、LC/MS/MS の強力な選択性により、マトリックスブランクの MRM クロマトグラムには、対象化合物に対する干渉物ピークが見られませんでした。図 2 に、(IS をスパイク添加した) マトリックスブランクと EN 分散 SPE メソッドにより処理した 50 ng/g 添加したホウレン草抽出液の LC/MS/MS クロマトグラムを示します。

カルベンダジム、チアベンダゾール、シプロジニル、およびピメトロジンといった平面構造を持つ 4 種類の農薬は、オリジナルの AOAC 分散 SPE メソッドにより大きく失われることが分か

りました。さらに、分散 SPE 手順にトルエンを含む修正したメソッドでは、抽出効率が向上しました。[3、4] 平面構造を持つ農薬に対する GCB の影響を調査するため、分散 SPE 手順にトルエン添加がある場合とない場合について、同じ濃度の農薬標準溶液 (50 ng/g) を含むホウレン草サンプルを分析する比較実験を実施しました。その結果、EN メソッドで使用する少量の GCB では平面構造を持つ農薬はほとんどまたはまったく失われませんでした。また、トルエン添加による結果の改善は特に得られませんでした。そのため、以降の実験では、オリジナルの EN メソッドを採用しました。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。

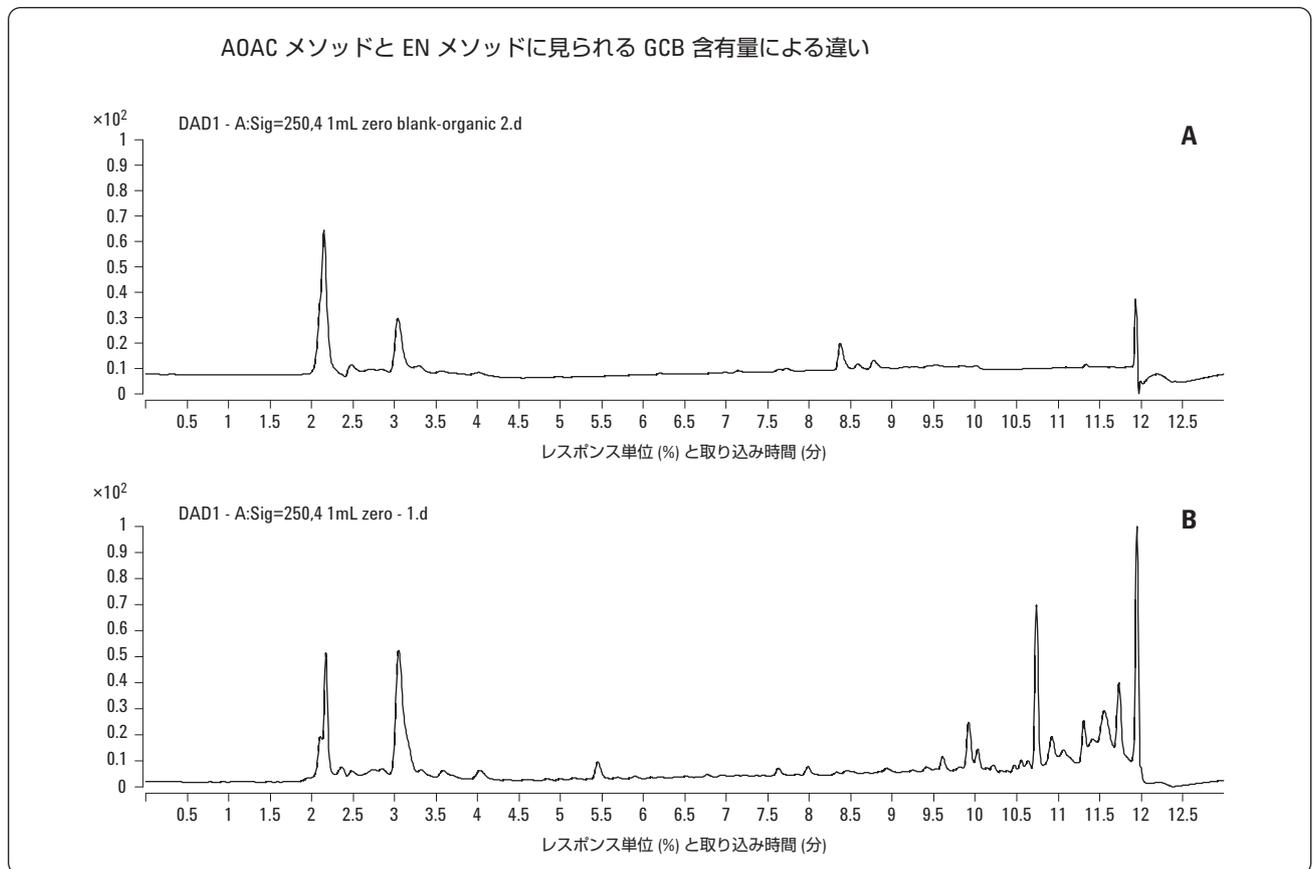


図 1. AOAC メソッドで処理した場合 (A) と EN メソッドで処理した場合 (B) のホウレン草マトリックスブランクの UV クロマトグラム

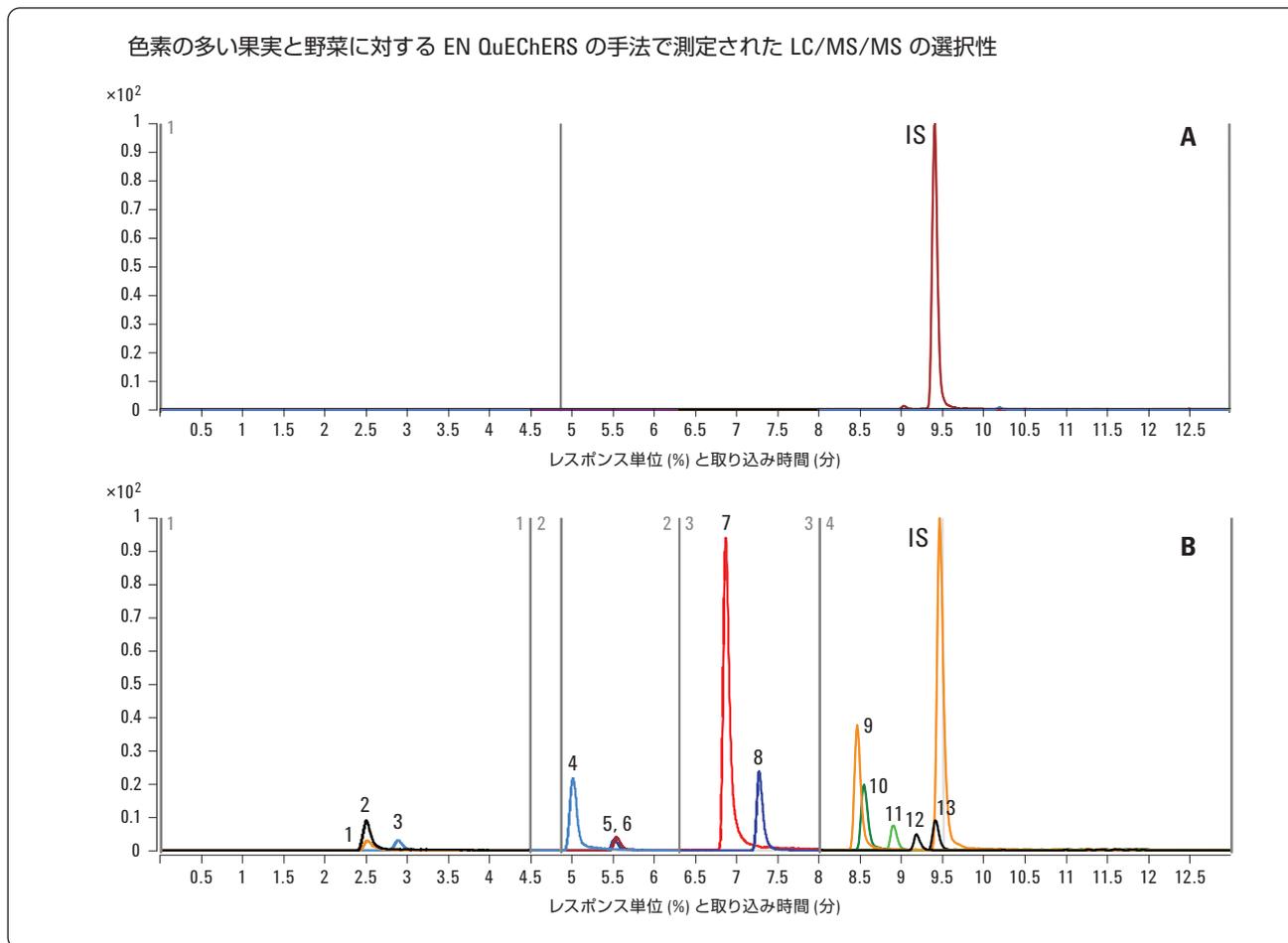


図 2. EN メソッドで処理したハウレン草マトリクスブランク (A) および 50 ng/g 添加したサンプル (B) の MRM クロマトグラム。ピーク同定:
 1. メタミドホス、2. アセフェート、3. ピメトロジン、4. カルベンダジム、5. イミダクロプリド、6. チアベンダゾール、7. プロボクスル、
 8. カルバリル、9. エトプロホス、10. イマザリル、11. ペンコナゾール、12. シプロジニル、13. クレソキシムメチル。IS: 内部標準、TPP。

直線性と定量限界値 (LOQ)

検量線の直線性の範囲は、すべての農薬について、5 ~ 250 ng/g でした。マトリクスブランクにスパイク添加した検量線は、5、10、50、100、200、および 250 ng/g のレベルで作成しました。100 ng/g における内部標準として、TPP を使用しました。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 よりも小さい値です。表 3 に、1 mL と 6 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. ホウレン草抽出液中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	6 mL の分散 SPE の回帰方程式	R ²
メタミドホス	$Y = 0.2220X + 0.0005$	0.9950	$Y = 0.2244X + 0.0003$	0.9893
アセフェート	$Y = 0.0814X + 0.0008$	0.9972	$Y = 0.0797X + 0.0005$	0.9974
ピメトロジン	$Y = 0.2063X + 0.0009$	0.9559	$Y = 0.1544X - 0.0006$	0.9946
カルベンダジム	$Y = 0.9015X + 0.0164$	0.9945	$Y = 0.8526X + 0.0008$	0.9917
イミダクロプリド	$Y = 0.0630X + 0.0001$	0.9814	$Y = 0.0682X - 0.0002$	0.9952
チアベンダゾール	$Y = 0.3028X + 0.0059$	0.9539	$Y = 0.2315X + 0.0007$	0.9968
プロボクスル	$Y = 1.3721X + 0.0018$	0.9983	$Y = 1.3304X + 0.0003$	0.9981
カルバリル	$Y = 0.3459X + 0.0009$	0.9968	$Y = 0.3224X - 0.0003$	0.9963
エトプロホス	$Y = 0.7588X - 0.0011$	0.9979	$Y = 0.7211X - 0.0023$	0.9984
イマザリル	$Y = 0.4644X + 0.0007$	0.9889	$Y = 0.4203X + 0.0002$	0.9990
ペンコナゾール	$Y = 0.1647X - 0.0010$	0.9937	$Y = 0.1595X - 0.0008$	0.9979
シプロジニル	$Y = 0.2575X + 0.0010$	0.9884	$Y = 0.2272X + 0.0007$	0.9987
クレンキシムメチル	$Y = 0.1175X - 0.0003$	0.9976	$Y = 0.1779X - 0.0008$	0.9962

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。添加レベルごとに分析を 6 回実行しました。1 mL と 6 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、平面構造を持たない 9 種類の農薬でよい回収率 (1 mL の場合、平均 90.4 %、6 mL の場合、平均 94.3 %) と精度 (1 mL の場合、RSD は平均 4.7 %、6 mL の場合、RSD は平均 5.3 %) が得られました。平面構造を持つ 4 種類の農薬では、回収率は下がりますが許容範囲の結果 (1 mL の場合、

平均 71.8 %、6 mL の場合、平均 79.8 %) でした。また、高い精度 (1 mL の場合、RSD は平均 5.8 %、6 mL の場合、RSD は平均 4.8 %) が得られました。

平面構造を持つ農薬に対する GCB の影響が見られ、化合物によって影響度が異なります。シプロジニルでは優れた回収率と精度が得られます。カルベンダジムでは、低濃度および中程度の QC の場合、優れた回収率と精度が得られますが、高濃度の QC では回収率が悪くなります。ピメトロジンおよびチアベンダゾールでは、回収率は落ちますが、精度は依然として許容範囲にあります。表 6 のデータは、EN メソッドおよび修正した (トルエン添加ありの) AOAC メソッドにより得られた平面構造を持つ農薬の結果を示しています。

表 4. 1 mL の分散 SPE 試験管 (部品番号 5982-5321) による添加ホウレン草に含まれる農薬の回収率および再現性

分析対象物	10 ng/g QC 添加		50 ng/g QC 添加		200 ng/g QC 添加	
	回収率	RSD (n=6)	回収率	RSD (n=6)	回収率	RSD (n=6)
メタミドホス	85.5	4.1	84.4	3.8	87.5	6.2
アセフェート	83.7	8.3	84.6	5.9	91.6	5.8
ピメトロジン*	60.0	6.4	57.8	4.7	61.4	9.1
カルベンダジム*	78.0	7.1	87.7	3.9	49.8	6.8
イミダクロプリド	96.5	6.2	91.1	4.6	94.6	4.6
チアベンダゾール*	64.3	7.0	71.5	6.5	71.5	5.8
プロボクスル	93.7	4.7	92.0	4.1	86.7	4.3
カルバリル	93.8	5.6	89.4	3.6	91.4	4.1
エトプロホス	97.1	4.6	89.8	2.6	83.7	4.1
イマザリル	86.6	5.7	80.6	4.9	84.2	4.8
ベンコナゾール	107.8	4.9	94.4	3.2	81.2	3.7
シプロジニル*	89.6	4.4	88.6	4.5	80.8	3.9
クレソキシムメチル	101.5	3.8	94.6	1.4	92.8	3.8

* 平面構造を持つ農薬

表 5. 6 mL の分散 SPE 試験管 (部品番号 5982-5356) による添加ホウレン草に含まれる農薬の回収率および再現性

分析対象物	10 ng/g QC 添加		50 ng/g QC 添加		200 ng/g QC 添加	
	回収率	RSD (n=6)	回収率	RSD (n=6)	回収率	RSD (n=6)
メタミドホス	85.0	8.3	87.7	2.7	95.0	9.4
アセフェート	88.6	5.1	84.6	3.1	94.6	9.3
ピメトロジン*	68.7	3.7	65.7	1.5	71.9	10.8
カルベンダジム*	94.0	5.4	91.4	2.7	53.5	9.3
イミダクロプリド	102.0	8.9	85.4	6.1	100.1	7.7
チアベンダゾール*	77.2	4.4	77.6	2.4	79.2	9.7
プロボクスル	98.2	5.7	96.3	1.8	93.9	7.2
カルバリル	98.5	3.6	94.0	1.7	97.4	7.2
エトプロホス	102.3	6.0	95.3	1.7	91.0	6.8
イマザリル	88.8	6.4	86.8	2.8	93.5	7.7
ベンコナゾール	104.5	2.5	96.4	2.0	84.6	5.5
シプロジニル*	101.5	4.2	92.2	2.4	86.8	7.6
クレソキシムメチル	99.7	6.1	97.4	1.6	95.3	6.9

* 平面構造を持つ農薬

表 6. EN メソッドおよび修正した (トルエン添加あり) AOAC メソッドにより得られた平面構造を持つ農薬の結果比較*

分析対象物	色素を多く含むマトリックス用の EN メソッド		トルエン添加により修正した AOAC メソッド	
	平均回収率 (%)	平均 RSD (%)	平均回収率 (%)	平均 RSD (%)
カルベンダジム	75.7	5.9	98.5	2.5
シプロジニル	89.9	4.5	63.1	3.2
ピメトロジン	64.3	6.0	65.2	3.7
チアベンダゾール	73.2	4.9	69.7	2.7

* データは参考文献 [4] に掲載されています

結論

Agilent サンプリーク QuEChERS EN バッファあり抽出キットおよび色素の多い果実と野菜用の分散 SPE キットにより、ホウレン草に含まれる代表的な農薬を精製するための簡単で高速かつ効率的なメソッドを実現できます。分散 SPE に使用する GCB の量が少ない場合、平面構造を持つ農薬の抽出に影響を与えません。このため、このような色素を多く含むマトリックスの抽出作業が、一般的な果実や野菜の場合と同じ程度に簡単になります。マトリックススパイク標準溶液に基づく回収率と再現性は、ホウレン草のさまざまな残留農薬の決定に必要な条件を満たしています。ただし、最終抽出マトリックスには、より多くの不純物が含まれるため、カラムおよび MS 機器に悪影響を与える場合があります。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、色素を多く含む果実と野菜用の Agilent サンプリーク QuEChERS EN 抽出キットおよび分散 SPE キットは、色素を多く含む同様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. European Committee for Standardization/Technical Committee CEN/TC 275 (2007), Foods of plant origin: Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE-QuEChERS method. European Committee for Standardization, Brussels

2. P. Payá, M. Anastassiades; "Analysis of Pesticide Residues Using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) Pesticide Multiresidue Method in Combination with gas and Liquid Chromatography and Tandem Mass Spectrometric Detection," *Anal Bioanal Chem.*, 2007, 389, 1697-1714.
3. L. Zhao, J. Stevens, 「グラファイトカーボンを含む Agilent サンプリーク AOAC QuEChERS キットおよびトルエンを用いたホウレン草中の平面構造を持つ農薬の回収率の最適化」アジレント資料番号 5990-4247JAJP.
4. L. Zhao, J. Stevens, 「Agilent サンプリーク 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」アジレント資料番号 5990-4248JAJP.
5. L. Zhao, J. Stevens, 「Agilent サンプリーク QuEChERS AOAC キットを使用した GC/MS によるホウレン草中の残留農薬分析」アジレント資料番号 5990-4305JAJP.
6. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/en/index.htm>
7. <http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/search.html>
8. <http://www.mrlDatabase.com/?selectvetdrug=0>

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
5990-4395JAJP



Agilent Technologies