



GC/MS大量注入を用いた 食品中残留農薬の迅速一斉分析法の評価

株式会社アイスティサイエンス
○佐々野僚一 谷澤春奈

AiSTI SCIENCE



目的

従来の前処理をGC大量注入を用いて改良した 前処理法の評価

評価項目

- ①前処理の操作性と迅速性
- ②固相ミニカラムによる精製効果
- ③回収率と精度
- ④測定機器の耐久性
- ⑤コストパフォーマンス

AiSTI SCIENCE



対象農薬

ポジティブリスト制 GC/MS対象農薬

製品名	農薬数	濃度
農薬混合標準液 22	50種	10ppm (アセフェート、 メタミドホスは50ppm)
農薬混合標準液 31	85種	10ppm
農薬混合標準液 34	46種	10ppm
農薬混合標準液 48	61種	10ppm
農薬混合標準液 51 (未発売)	26種	10ppm
農薬混合標準液 1111	13種	10ppm
合計		281種

*いずれも関東化学社製

AISTI SCIENCE



通知法とQuEChERS法の比較（抽出）

■通知法

- 試料 20g
 |— アセトニトリル 50mL
 ホモジナイズ
 ★作業時間：40分
- 吸引ろ過
 |— アセトニトリル 20mLで洗い込み
 定容
 |— アセトニトリルで100mLに定容
 分取 20mL(試料4g相当)
 |— NaCl 10g
 |— I法:リン酸緩衝液(pH7) 20mL
 |— II法:0.01mol/L 塩酸(pH2) 20mL
 液液分配(アセトニトリル/水)
 | 10分静置後、アセトニトリル層を分取

■ QuEChERS法(起橋法を参考)

- 試料 10g
 |— アセトニトリル 10 mL
 ホモジナイズ
 ★作業時間：8分
- |— NaCl 1g, MgSO₄ 4g
 |— クエン酸3Na2水和物 1g
 |— クエン酸水素2Na1.5水和物 0.5g
 攪拌(手で振とう 1分間)
 遠心分離(3000rpm 5分間)

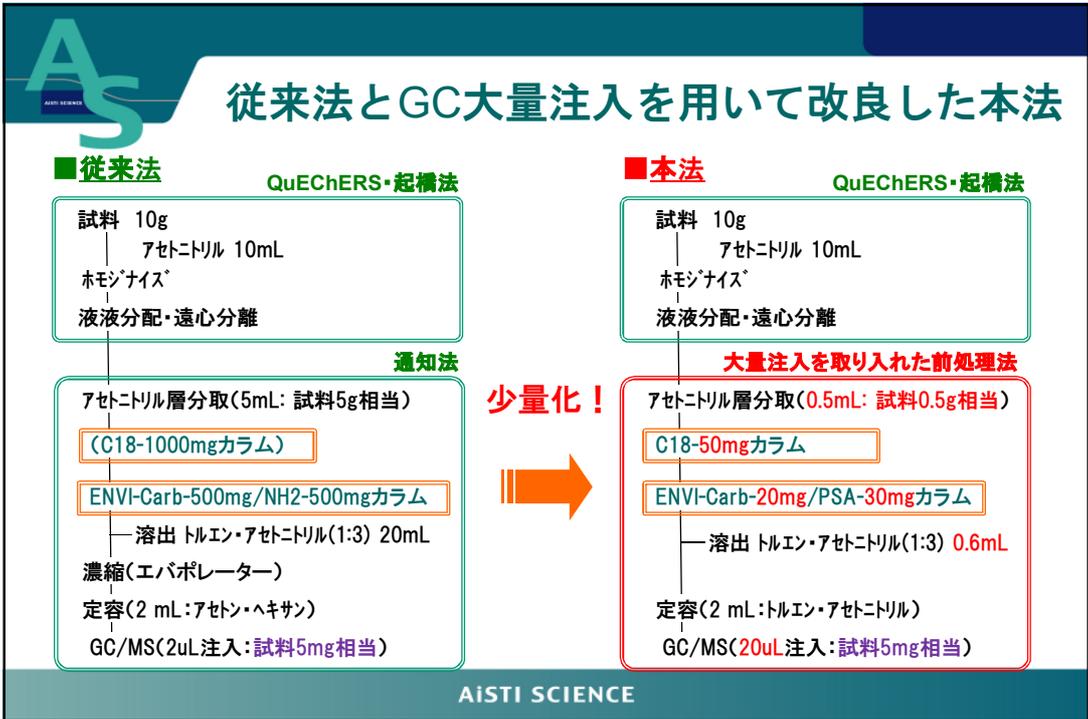
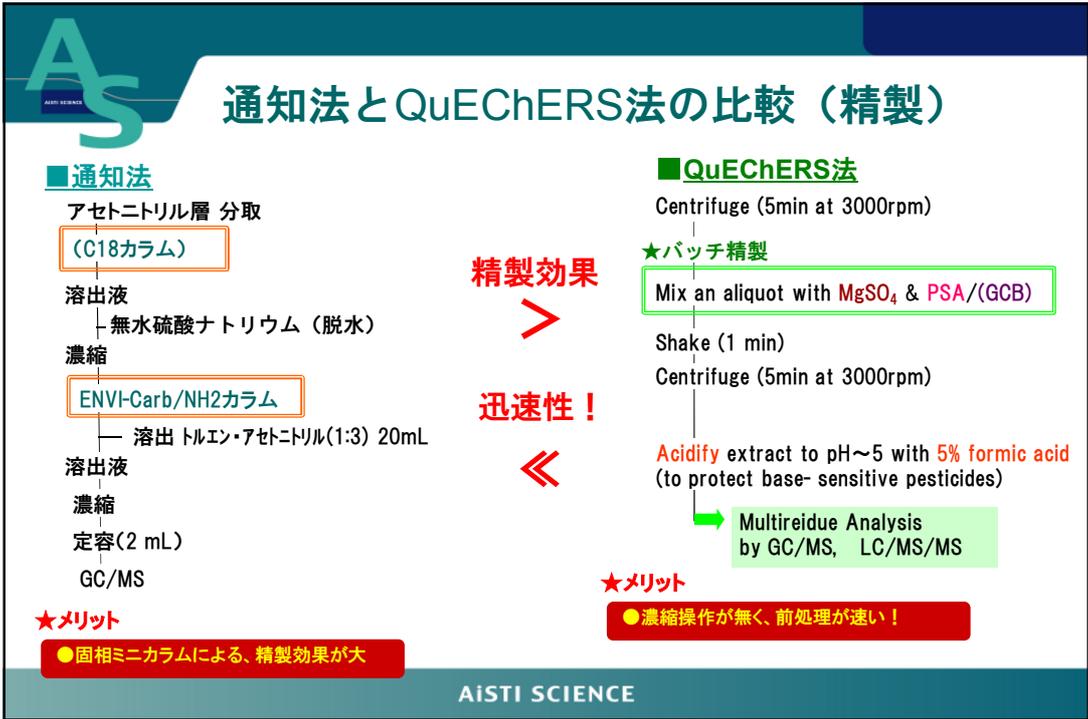
操作性！

迅速性！

★メリット

- 液液分配を抽出時に同時にできる
- 使用溶媒量が少ない
- 使い捨て容器の使用により、ガラス器具・分液ロートが不必要
- 多数検体を同時に作業できる

AISTI SCIENCE



本法前処理フロー

抽出 ★分析時間:30分/4検体

- 試料 10g
 - アセトニトリル 10 mL
- ホモンナイス[®]
 - NaCl(食塩) 1g
 - クエン酸3Na2水和物 1g
 - クエン酸水素2Na1.5水和物 0.5g
 - MgSO₄(無水硫酸マグネシウム)4g
- 攪拌(手で振とう 1分間)
- 遠心分離(3000rpm 5分間)

分液ロートによる液液分配や
エバポレーターなどによる濃縮操作を省略化

精製

★分析時間:15分/10検体

- アセトニトリル層分取 0.5mL (試料 0.5 g 相当)
- C18-50mg
 - 洗液 アセトニトリル 0.5mL
- 流出液
 - 添加 トルエン 0.3mL
- GCS-20mg/PSA-30mg
 - 洗液 トルエン・アセトニトリル(1/3) 0.6mL
 - 添加 フェナントレン-d+1%PEG300 4uL
- 定容(2 mL)
- GC/MS(大量注入20uL注入:試料5mg相当)

1. 抽出

- 試料 10g
 - アセトニトリル 10 mL
- ホモンナイス[®]
 - NaCl 1g
 - クエン酸3Na2水和物 1g
 - クエン酸水素2Na1.5水和物 0.5g
 - MgSO₄ 4g
- 攪拌(手で振とう 1分間)



塩 4種類



①ホモンナイス[®]



②攪拌

2. 液液分配

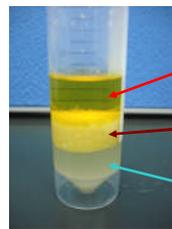
遠心分離
(3000rpm 5分間)
—
(液液分配)



遠心分離

★ 除去物質
水溶性の高い植物成分
糖類
水

塩析効果により農薬をアセトニトリル層へ移行させ、水溶性成分や水を除去する。



アセトニトリル層

試料層(オレンジ)

水層(pH3)

逆さにしても混ざらない!!



AISTI SCIENCE

3. ミニカラム精製①

分取 0.5mL (試料 0.5 g 相当)

C18-50mg

— 溶出 アセトニトリル 0.5mL

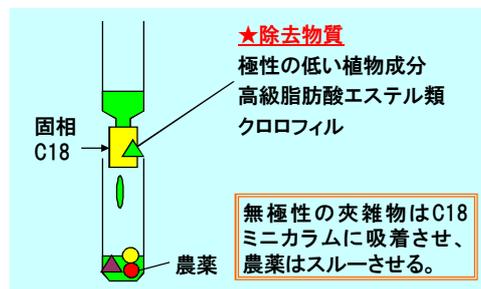
流出液



分取 0.5mL



C18に通液

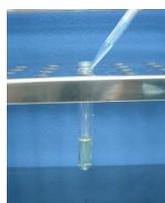


AISTI SCIENCE

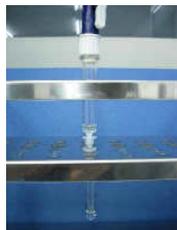
4. ミニカラム精製②

- 流出液
- 添加 トルエン 0.3mL
 - GCS-20mg/PSA-30mg**
 - 洗液 トルエン・アセトニトリル(1/3) 0.6mL
 - 添加 フェナントレン-d + 1%PEG300 4uL

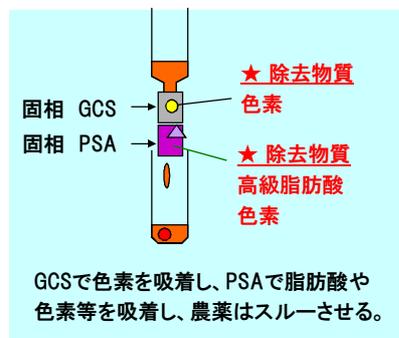
定容(2mL)



トルエン 0.3mL



C18 50mgに通液



AISTI SCIENCE

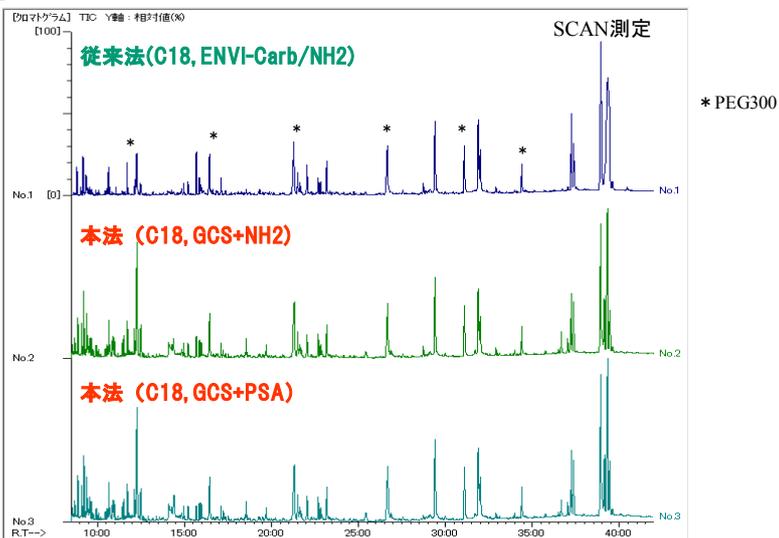
GC/MS条件

PTV Injector	LVI-S200 (AISTI Science); Stomach Insert
Injector Temp.	90°C-120°C/min-240°C (1min)-50°C/min-270°C (30min)
Auto Sampler	Agilent 7683; 50 µL Syringe
Injection Volume	25 µL
GC/MS	JMS-Q1000GC (JEOL)
Pre-column	Deactivated silica capillary tube, 0.25mm × 0.3m
Column	ENV-5MS, 0.25mm i.d. × 30m, df: 0.25µm
Column Oven Temp.	60°C (4min)-20°C/min-160°C-5°C/min-220°C-3°C/min-235°C-7°C/min-310°C (8min)
Inlet Mode	Solvent Vent Mode
Vent Flow	150 mL/min
Vent Press	70 kPa
Vent End Time	0.42 min
Purge Flow	50 mL/min
Purge Time	4 min
Gas Saver Flow	20 mL/min
Gas Saver Time	6 min
Detector Temp.	280°C
MS Method	SCAN: 50 - 450 m/z, SIM

AISTI SCIENCE



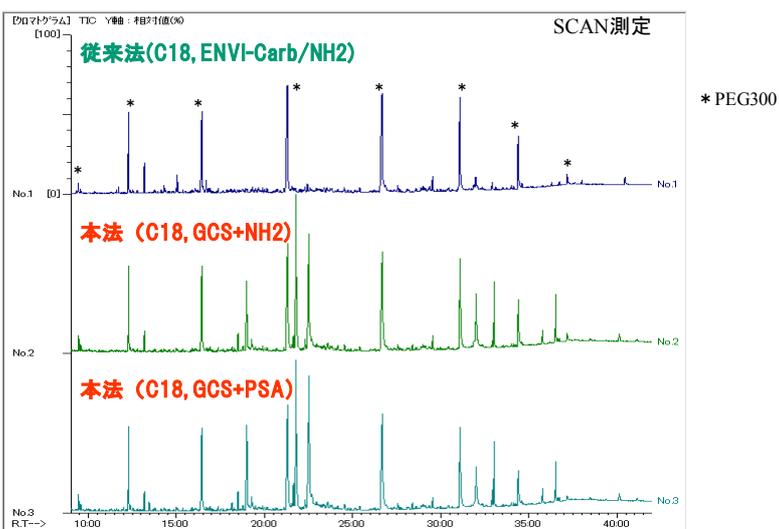
固相ミニカラムによる精製効果(オレンジ)



AiSTI SCIENCE



固相ミニカラムによる精製効果(ホウレン草)



AiSTI SCIENCE

添加回収試験(回収率分布)

本法 (C18, GCS+PSA)

作物	ほうれん草
試料中濃度	0.01 ppm
回収率(%)	
ND, 0-50	17
50-70	10
70-120	212
120-	42
合計	281

(単位:成分)

通常エバポレーターを使用すると揮発性の高い農薬ジクロロボス(DDVP)の回収率が低下することがあるが、本法では使用していないため、90%以上の回収率を得ることができた。

極性の高い農薬メタミドホスやアセフェートなどの回収率も80%以上の回収率を得ることができた。

回収率50%以上の農薬の平均RSD(n=5)は3.7%であり、少ない分取量ではあるが良好な再現性を得た。

まとめ

- GC大量注入法を用いることで分取量を少量化できるため、精製のための固相量が少量化でき、さらにコンディショニングや洗液に必要な溶媒量も少量化でき、迅速化へ導くことができた。また、手間と時間のかかる濃縮操作を省略することができ、簡便で迅速な一斉分析法となった。
- 分取後から定容するまでの前処理時間は10検体でわずか15分で終了した。
- 試料中濃度0.01ppmの添加回収試験(ほうれん草)の結果、281種中70-120%の回収率は212種であった。揮発性の高いDDVPや極性の高いメタミドホス・アセフェートなどの回収率も80%以上と良好であった。
- 分取量が0.5mLで少ない量であるが、回収率50%以上の農薬の平均RSD(n=5)は3.7%であり、良好な再現性を得た。
- 本法は従来法と比較してGCへ注入する絶対量を同じにしているため、測定機器の耐久性も同等であると考えられる。
- 従来の前処理法に大量注入法を組み込むことで、その前処理の簡易化および迅速化が期待できる。



謝辞

日本電子株式会社様

関東化学株式会社様

参考文献

Michelangelo Anastassides, <http://www.quichers.com>

Masahiro Okihashi, Food 1 (2007) 101-110

永井雄太郎他, 第30回農薬残留分析研究会講演要旨 102-110