

LC/MS/MS を用いた残留農薬の多成分迅速一斉分析法の検討

株式会社アイスティサイエンス

谷澤春奈 佐々野僚一

アプライドバイオシステムズジャパン株式会社

大関由利子

【目的】中国産冷凍餃子に混入した高濃度メタミドホスによる中毒事件を受けて、食品の安全性が懸念されている中で、生鮮食品だけでなく加工食品中の残留農薬分析の必要性も高まっている。これに伴い分析検体数の大幅な増加が見込まれる中、今まで以上に簡便な迅速分析が必要とされている。今回、LC/MS/MS を用いて前処理法を中心に、通知法一斉分析の LC 法に挙げられた農薬(新たに追加された農薬も一部含む)と GC 法で苦手とする一部の高極性農薬を対象として、濃縮操作のないより簡便な方法を検討したので報告する。

【方法】1. 対象農薬: ポジティブリスト制度 LC/MS 対象 37 種(農薬混合標準液 44)、19 種(農薬混合標準液 45)、29 種(農薬混合標準溶液 53)、32 種(農薬混合標準溶液 54)、GC/MS 対象 50 種(農薬混合標準液 22)の内 2 種(アセフェート、メタミドホス)(関東化学社製)、固相カートリッジ: SAIKA-SPE(アイスティサイエンス社製)

2. 試料: ほうれん草、他

3. 試料調製

試料 10g

アセトニトリル 10mL

ホモジナイズ

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

無水硫酸マグネシウム 4g

撈拌(手で振とう、1分)

遠心分離(5分、3000rpm)

アセトニトリル層を全量分取

定容(10mL、アセトニトリルで調製)

分取 1mL(試料1g相当)

SAIKA-SPE PSA-30mg

溶出 0.4%ギ酸含有MeOH(pH2.5) 0.5mL

下液

水 0.5mL

SAIKA-SPE C18-30mg

洗液 80% メタノール 0.5mL

定容(4mL、水で調製)

LC/MS/MS

Scheme 1. 試験溶液の調製法

4. 測定条件

装置

MS: API3200 Q TRAP (Applied Biosystems)

LC: Prominence HT (SHIMADZU)

カラム

AtlantisT3 (粒径3 μ m, ϕ 2.1 \times 150mm) (Waters)

移動相

A液 0.5mM酢酸アンモニウム水溶液

B液 0.5mM酢酸アンモニウム含有メタノール

分析時間

メソッド 30分(Pos+), メソッド 30分(Neg-)

流速

0.2mL/min, 注入量 5 μ l

イオン化モード ESI(+)(-)

測定モード

MRM(Multiple Reaction Monitoring)

【結果と考察】1. 前処理法の効率化 抽出の効率化: 試料ホモジナイズ後に吸引ろ過を行う従来の抽出法は、多検体処理の場合どうしても検体数に比例して時間がかかってしまう。今回、QuEChERS 法¹⁾を参考にし、試料ホモジナイズ後に数種の塩を添加し遠心分離を用いること²⁾で、抽出工程の効率化を図った。食塩と無水硫酸 Mg の添加により塩析脱水も同時に行え、またクエン酸塩を用いることで酸性農薬も中性・塩基性農薬と共に一度でアセトニトリル層へ移行できるため、幅広い性質を持つ農薬の同時抽出法としてメリットは大きいと思われる。

固相ミニカラムによる精製³⁾: 抽出液を分取後、PSA ミニカラムを用いてまず高級脂肪酸等の除去を行い、アニオン交換により PSA にトラップされた酸性農薬を 0.4%ギ酸メタノール(pH2.5)で溶出した。下液に水を加え C18 ミニカラムを用いることで、低極性の植物成分やクロロフィル、高級脂肪酸エステル類を除去し、LC の分析カラム(ODS)へのマトリックス吸着の低減を図った。

2. 添加回収試験: ほうれん草を用いて試料中濃度 0.1ppm での添加回収試験(n=5)を行った結果、119 成分中 84 成分が回収率 70~120%以内で RSD もすべて 15%以下と良好な結果が得られた。回収率が 50%未満の農薬は 11 成分あり、ほとんどが LogPow4 以上の低極性農薬であり、C18 ミニカラムから溶出されていないことがわかった。溶出溶媒比率や溶出量を変更することで改善できると思われる。

以上より、QuEChERS 法を参考にした抽出法と固相ミニカラムによる精製を組合わせたことで、濃縮操作の無いより簡便な一斉分析法を構築できた。今後は加工食品にも適用できるように検討を行う予定である。

参考文献: 1) <http://www.quechers.com>, 2) Masahiro Okishashi, Food 1 (2007) 101-110, 3) 谷澤ら, 第94回学術講演会要旨P.46