

# SPE-LC-SPE-GC/MS システムを用いたクロロタロニル分析法の検討

○浅井 智紀、斎藤 勲、佐々野 僚一  
株式会社アイスティサイエンス

【目的】食品中残留農薬分析において、クロロタロニル(TPN)は試料調製時の分解を抑制するため、酸性条件で抽出を行う個別分析法が用いられる。演者らは、個別分析の迅速・簡便かつ自動化を目的とした装置システムを開発した。本演題ではQuEChERS法を参考に抽出した試料をシステムに供し、TPN分析の検討を行った結果について報告する。

【方法】SPE-LC-SPE-GC/MSシステムの概要を図1に示した。SPE-LC-SPE-GC/MSシステムは自動固相抽出装置 LGI-X100(アイスティサイエンス)-LC2030(島津製作所)-大量注入口装置LVI-S250(アイスティサイエンス)を搭載したGCMS TQ8040(島津製作所)をオンライン化したシステムにより構成した。抽出液を固相カラムで精製した試料をLCへ導入・分画し、ターゲット溶出面分を固相へ再濃縮した後に溶出液をGC/MSへ注入して測定を行った。

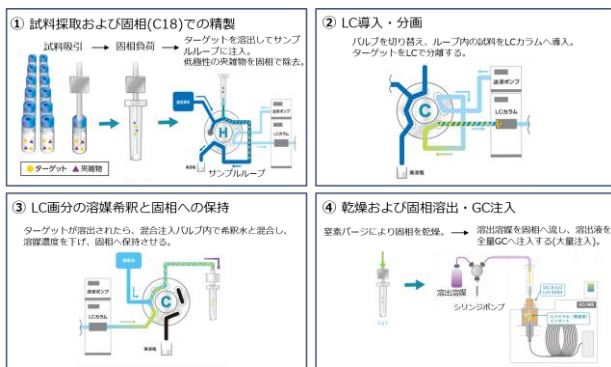


図1 SPE-LC-SPE-GC/MSシステムの概要

試料は玉ねぎ、白菜、大根、キャベツ、ピーマンの5作物を使用し、予冷式ドライアイス凍結粉碎法により均一化した。粉碎した試料

10 gに10%リン酸1 mLを加えて酸性にした後、TPN標準液を添加、QuEChERS法を参考に抽出した試料をSPE-LC-SPE-GC/MSシステムに供した。

【結果】TPNの添加回収試験の結果を表1に示した。検討した5作物において、0.01 ppmでの添加回収試験でいずれも回収率80-110%となり、再現性評価についても良好な結果であった。硫黄性成分を含むアブラナ科の白菜、大根、キャベツおよびアリウム属である玉ねぎにおいて良好な回収率結果が得られた。また、H30において検出事例が報告<sup>1)</sup>されているナス科のピーマンにおいても回収率結果は良好であった。

表1 添加回収試験結果

添加濃度: 0.01 ppm (n=5)

	玉ねぎ	白菜	大根	キャベツ	ピーマン
回収率(%)	82	110	110	99	108
RSD(%)	11.4	7.3	7.5	3.6	3.6

【考察】今回の検討においては、予冷式ドライアイス凍結粉碎および抽出時のリン酸添加によりTPNの分解を抑制することができたと考えられた。また、複数の作物において安定した結果が得られたことから、開発したオンラインシステムは汎用的に使用可能であると考えられた。今後、他の農薬成分についても検討を行う。

参考文献 1) 国内産農産物における農薬の使用状況及び残留状況調査の結果について(平成30年度) 別表3, 農林水産省HP

## 演題16

# SPE-LC-SPE-GC/MSを用いたクロロタロニル 分析法の検討

○浅井 智紀、斎藤 勲、佐々野 僚一  
株式会社アイスティサイエンス



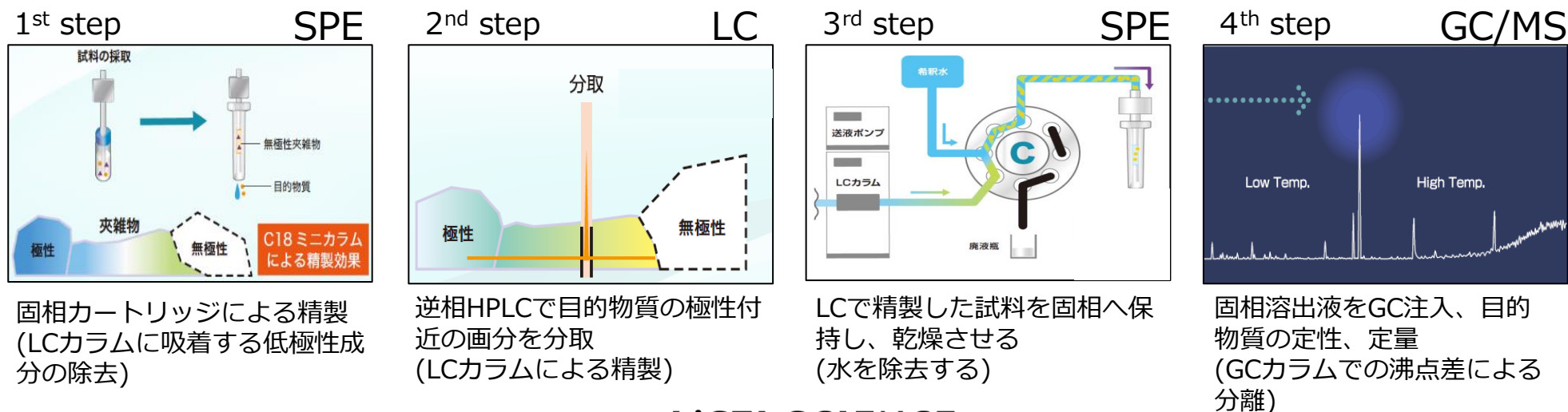
Beyond your Imagination

**AiSTI SCIENCE**

# 目的

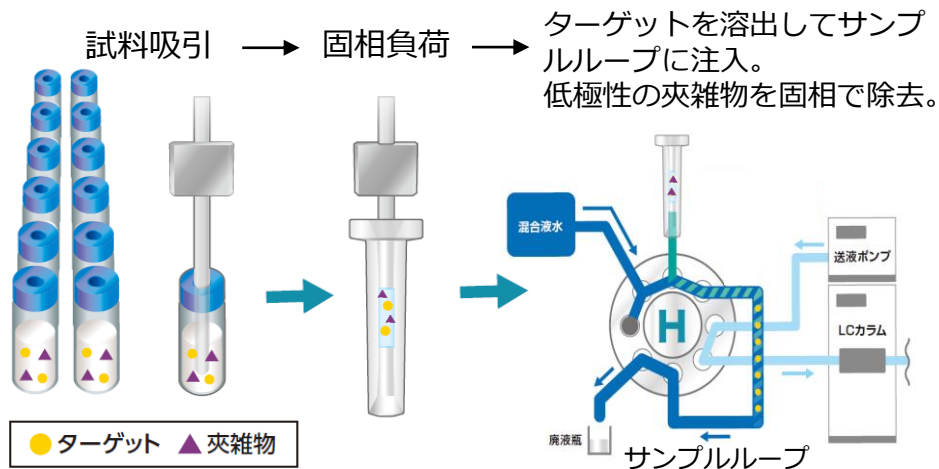
新規に開発したSPE-LC-SPE-GC/MSシステムを用いて、個別分析の迅速・簡便かつ自動化が可能な装置システム開発を行っている。食品中残留農薬分析において、クロロタロニル(TPN)は、試料調製時の分解を抑制するため、酸の添加によりpHを調整する分析法が用いられている。今回、クロロタロニルの分析法として、ドライアイス凍結粉碎、QuEChERS法を参考とした抽出法で抽出した試料を、SPE-LC-SPE-GC/MSシステムで分析する方法を検討した。

## SPE-LC-SPE-GC/MSシステムの概要



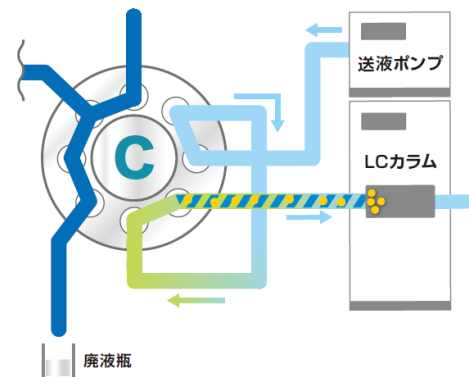
# SPE-LC-SPE-GC/MSシステムのフロー図

## ① 固相抽出(LC分画前)



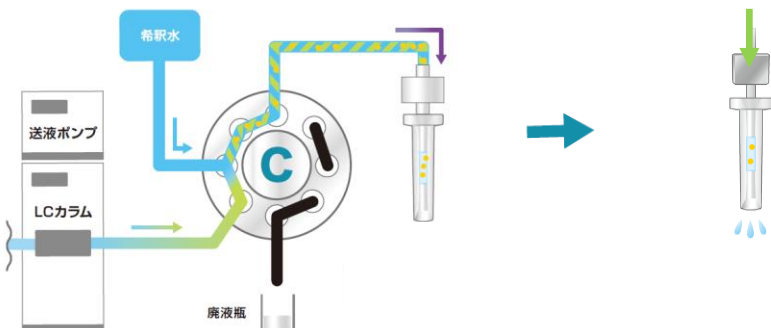
## ② LC分離

バルブを切り替え、ループ内の試料をLCカラムへ導入。  
ターゲットをLCで分離する。



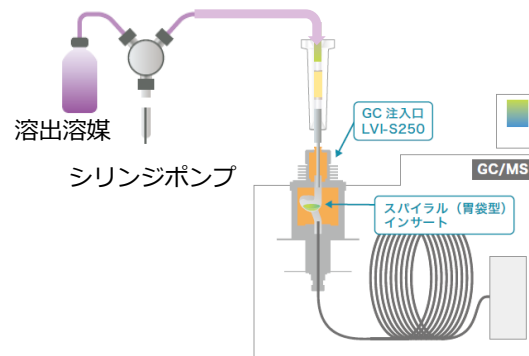
## ③ 固相抽出(LC分取後)

ターゲットが溶出されたら、混合注入バルブ内で希釈水と混合し、溶媒濃度を下げ、固相へ保持させる。 → 窒素パージにより固相を乾燥。



## ④ GC/MS測定

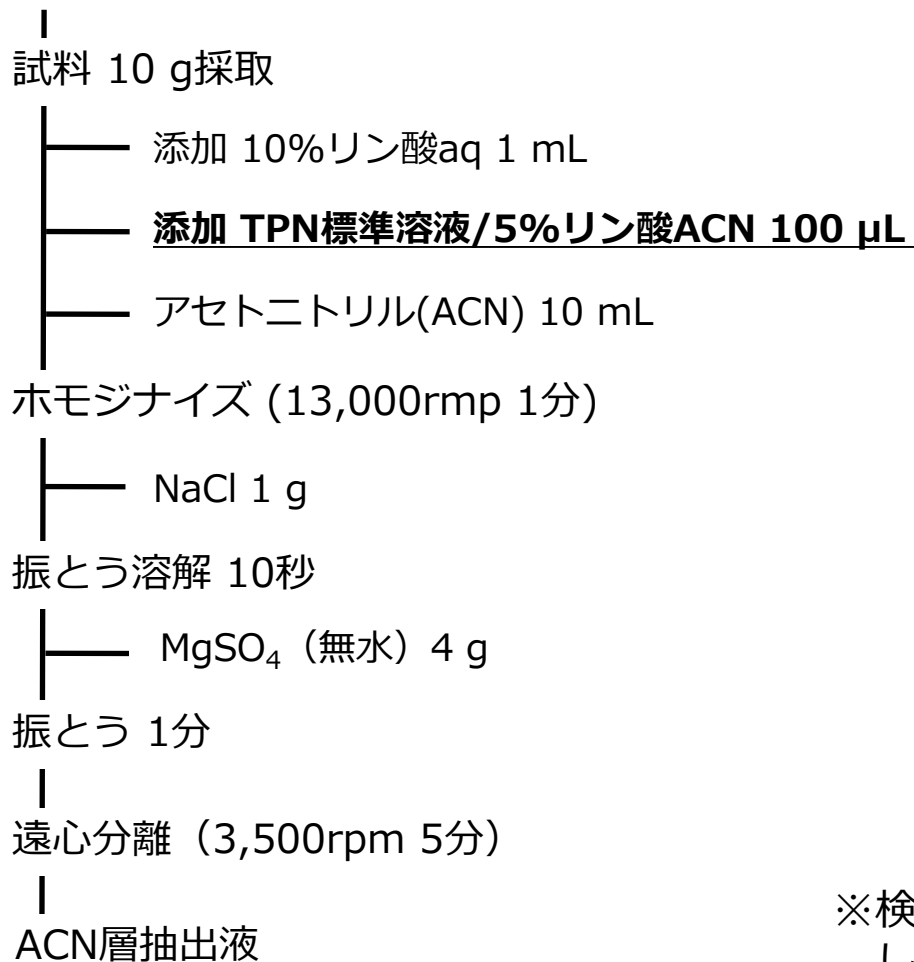
溶出溶媒を流し、固相からの溶出とGC注入を同時に行う (溶出溶媒約40μL大量注入)。



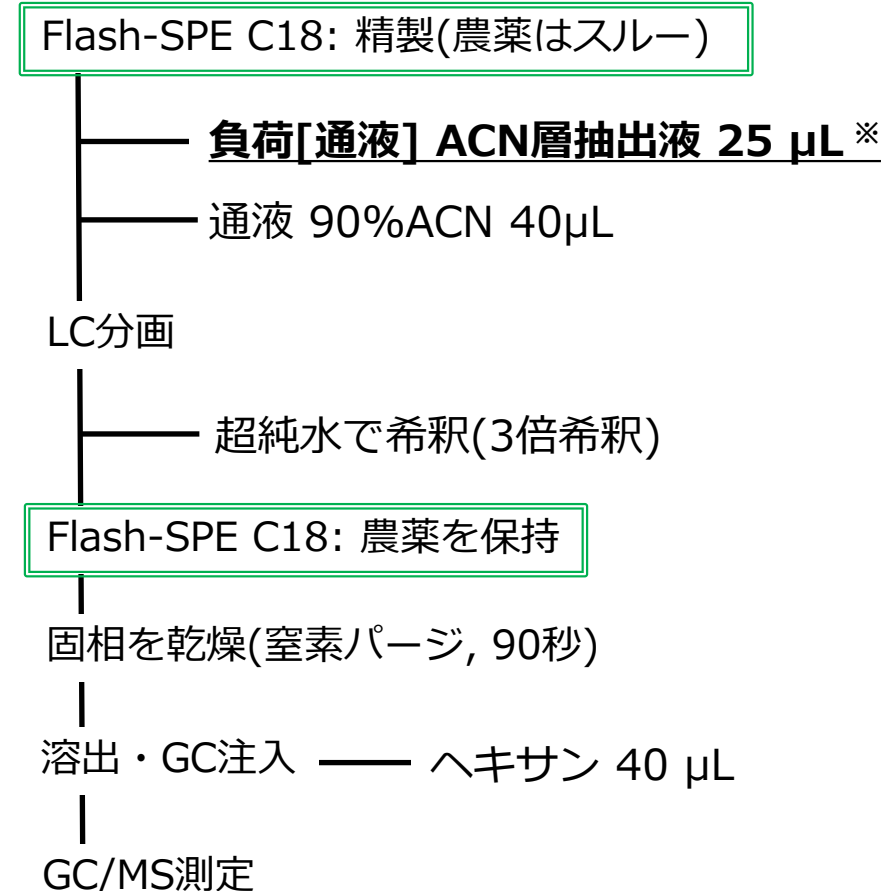
# 抽出および精製フロー

## 抽出フロー(QuEChERS法参考)

予冷式ドライアイス凍結粉碎



## SPE-LC-SPE-GC精製フロー



※検量線用標準液は1%リン酸ACNにTPN標準溶液を添加したものを25 μL 固相へ負荷

# 装置条件

## 装置構成

自動固相抽出装置:	LGI-X100 (アイスティサイエンス)	LC:	LC2030 (島津製作所)
大量注入口装置:	LVI-S250 (アイスティサイエンス)	GCMS:	TQ8040 (島津製作所)

## LC条件

移動相A:	H <sub>2</sub> O	検出波長:	254 nm
移動相B:	ACN	カラム:	Inertsil ODS-3 [内径3 mm×長さ100 mm, 粒子径5 μm (GLサイエンス)]
流速:	0.6 mL/min	タイムプログラム:	Bconc. 10%(1min hold), 10→50%(1-2min), 50→60%(2-9min), 60→95%(9-10min), 95%(5min hold), 95→10%(15-16min), 10%(4min hold) <b>[total 20min]</b>
オープン温度:	40°C		

## GCMS条件

カラム:	VF5-MS [20 m×0.25 mm (0.25 μm)]	スプリットタイム プログラム:	スプリット 1:100 (0.42min hold)→スプリットレス(0.42-4min)→スプリット 1:50
キャリアガス:	ヘリウム	昇温プログラム:	80°C(4min)-35°C/min-310°C(3min) <b>[total 14min]</b>
カラム流量:	1.0 mL/min	MS測定モード:	SCAN ( <i>m/z</i> 50-480)
IF温度:	290°C		
イオン源温度:	260°C		

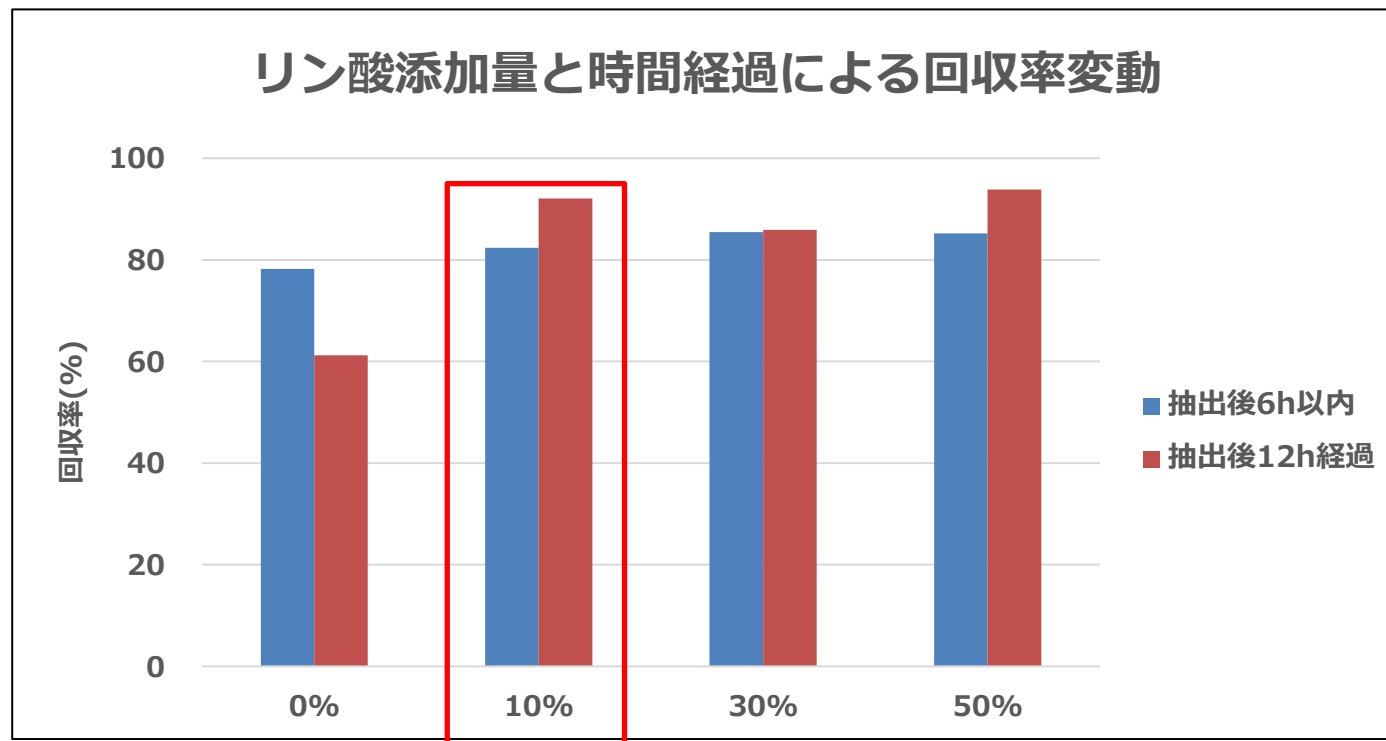
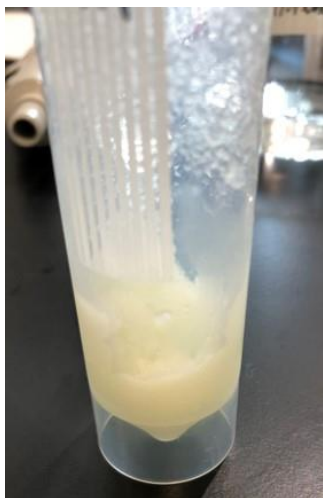
## 注入口条件

タイムプログラム:	70°C(0.42min)-120°C/min-240°C-50°C/min-290°C(9min) <b>[total 11 min]</b>
-----------	--

# 抽出時のリン酸添加濃度の検討

各濃度のリン酸水溶液を1 mL加えてから抽出→SPE-LC-SPE-GC/MSシステムに供して検討を行った。

リン酸水溶液 1mLを添加して振った様子



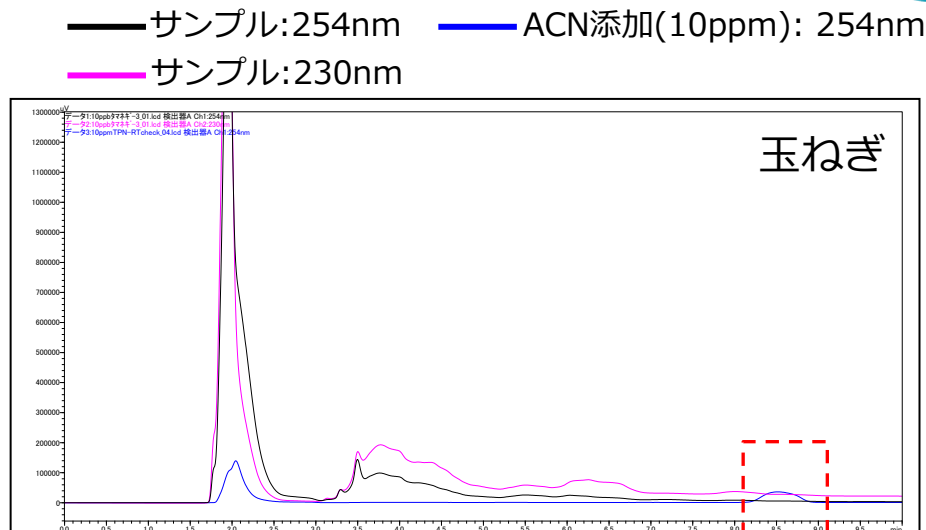
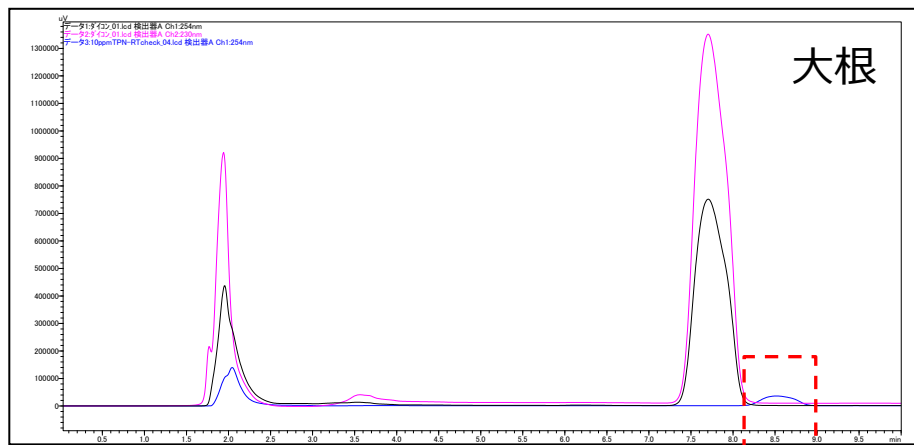
試料: 玉ねぎ(添加濃度0.1 ppm)



12時間後でも回収率の低下が見られず、酸の添加量が少ない10%リン酸添加条件を採用した。

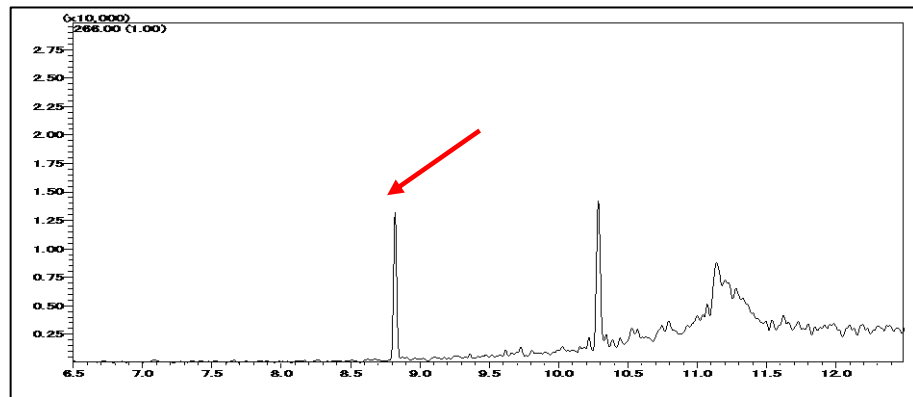
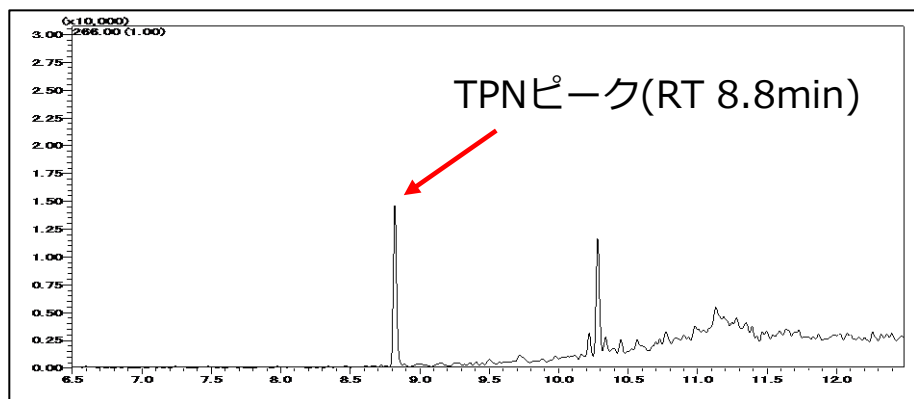
# LC分画による精製効果

LCクロマトグラム (ACN添加標準液との重ね書き)



分画部分(RT 8.1-9.1min)

GCクロマトグラム ( $m/z$  266)



GCのクロマトに大きな夾雑物ピークの検出はなく、十分な精製効果が得られた。

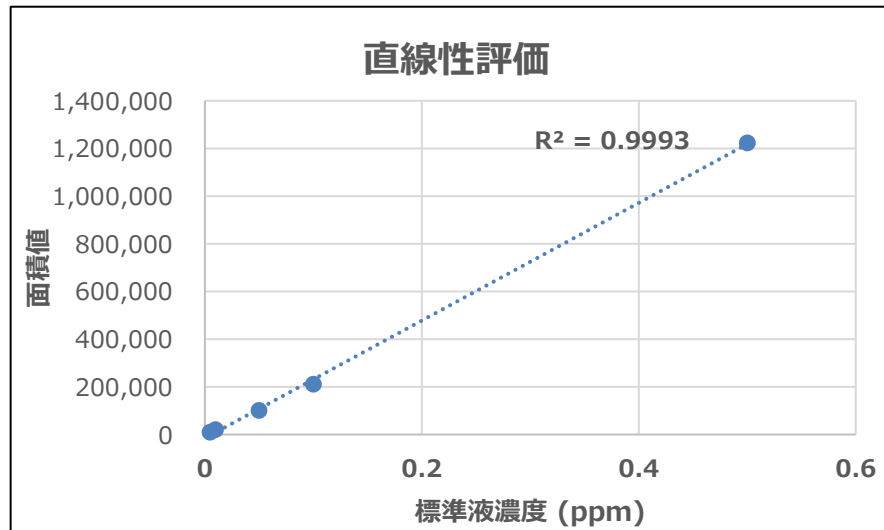


# 直線性および再現性評価

## ①直線性評価

ACN添加標準液25 μLを注入した濃度と面積値の相関性

濃度(ppm)	面積値
0.5	1,222,731
0.1	210,990
0.05	100,283
0.01	19,989
0.005	9,653



## ②再現性評価

ACN添加標準液を連続分析した面積値 (n=10, 添加濃度0.1 ppm)

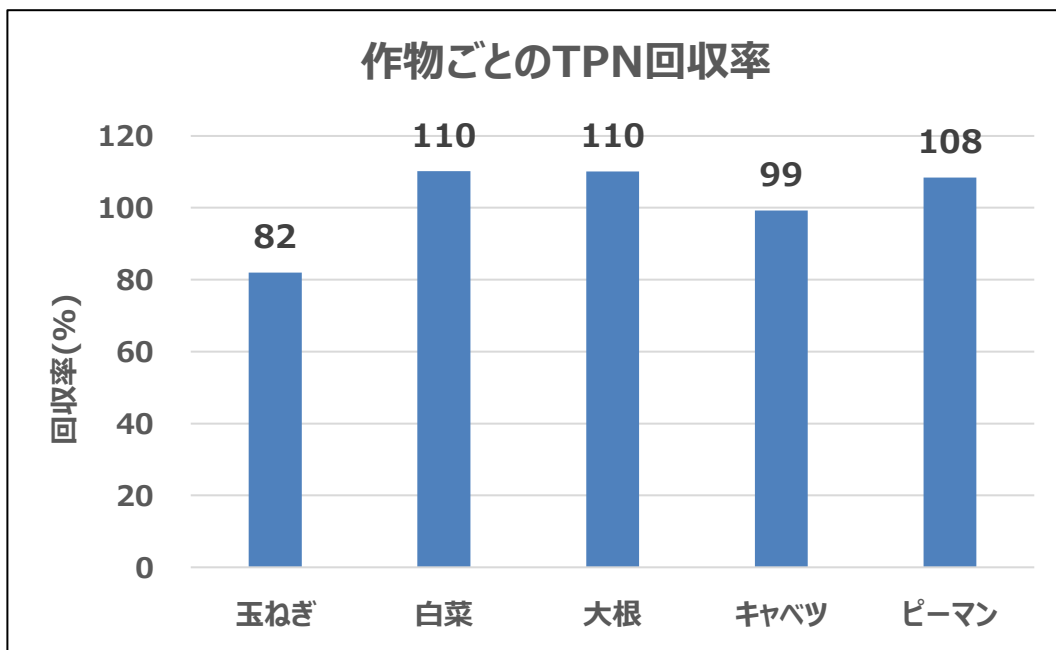
test_01	test_02	test_03	test_04	test_05	test_06	test_07	test_08	test_09	test_10	Average	RSD
202,598	198,009	192,846	196,471	195,874	186,430	186,669	174,218	187,503	188,383	<b>190,900</b>	<b>4.2</b>

ACN添加標準液において、良好な直線性と再現性が確認できた。

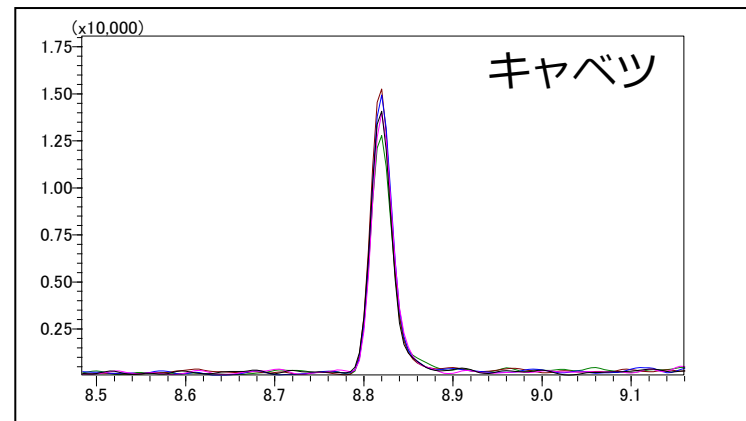
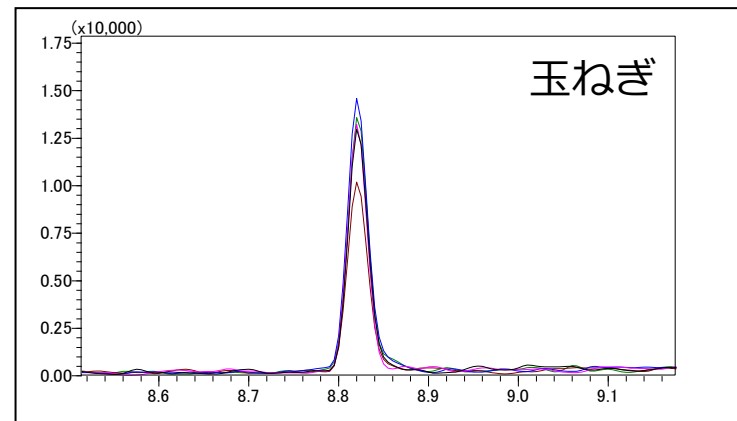
# 添加回収試験結果

添加濃度: 0.01 ppm (n=5)

	玉ねぎ	白菜	大根	キャベツ	ピーマン
回収率(%)	<b>82</b>	<b>110</b>	<b>110</b>	<b>99</b>	<b>108</b>
RSD(%)	<b>11.4</b>	<b>7.3</b>	<b>7.5</b>	<b>3.6</b>	<b>3.6</b>



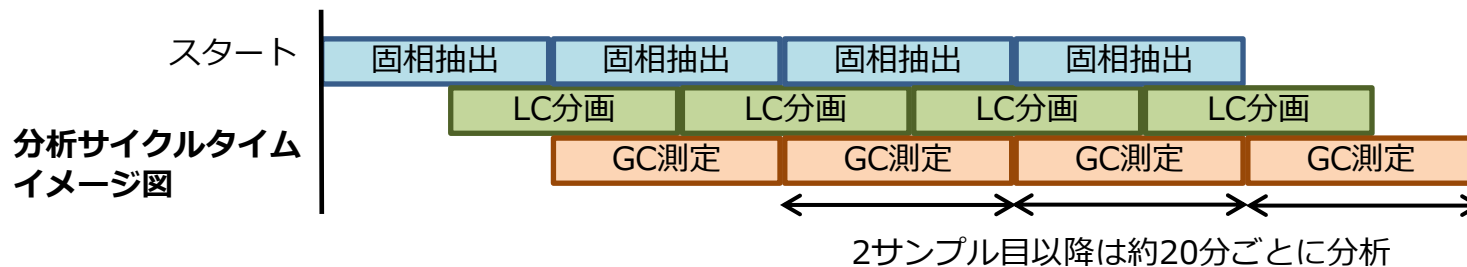
定量イオンクロマトの重ね書き (m/z 266)



➡ 0.01 ppmの添加回収試験において、良好な回収率と再現性結果が得られた。

# まとめ

- 凍結粉碎法→QuEChERS法を参考とした抽出→SPE-LC-SPE-GCシステムを用いることにより、クロロタロニルの個別分析が可能であった。また、5種の作物において安定した回収率と再現性結果が得られたことから、本システムが汎用的に使用できることが示された。
- 凍結状態の試料10gに対し10%リン酸 1mLを添加することで回収率の向上が見られた。抽出時にリン酸を添加することにより、硫黄成分を含む玉ねぎ、大根などの作物においても80-110%の良好な回収率が得られた。粉碎時の分解の影響については今後検証が必要であると考えられた。
- 本システムを用いることで、固相抽出-LC分画-GC測定までを全自動で操作が可能であった。さらに、GC測定の間次サンプルの前処理を行うことにより、1サンプルの分析に要する時間を20分程度に収めることが可能であった。



## 今後の検討課題

他の農薬成分についても検討を行い、本システムでの分析法の確立を目指していく。