

HPLC-GC/MS システムを用いた食品中残留農薬の個別分析への応用

(株) アイスティサイエンス 佐々野僚一 谷澤春奈

【目的】ポジティブリスト制が導入され、一年が過ぎようとしている。この間に多くの機関において多成分一斉分析法の需要が急速に高まっている。しかしながら、同時にこのポジティブリスト制による多成分一斉分析によって検出された農薬などの限定された個別分析の簡易で迅速な分析法の需要も増えている。

演者らは、これまで HPLC を前処理装置として用いた HPLC-GC/MS システムの開発を行い報告してきた。¹⁾ そこで本研究ではこの HPLC-GC/MS システムを用いて、最近国内で回収命令のあった水菜とイチゴ中のホスチアゼートの個別分析への応用を試み、良好な結果を得たので報告する。

【実験方法】

1. 試料: 水菜、イチゴ。 添加濃度: 0.05 ppm,

2. 前処理

試料 20g アセトニル 50mL ホゾナイフ 抽出 アセトニル 25mL 定容 (水で 100mL)	分取 2mL (試料 0.4g 相当) ミニ固相カートリッジ C18-50mg アセトニル水 1mL 流出液 水 1mL 定容 (4mL) HPLC-GC/MS (SCAN) 測定
--	--

3. 装置: HPLC: Agilent 1100 シリーズ (アジレント社製)、GC/MS: JMS-Q1000GC (日本電子社製)、LC-GC インターフェイス: LGI-S100 (アイスティサイエンス社製)、GC 注入口装置 LVI-S200 (アイスティサイエンス社製)。

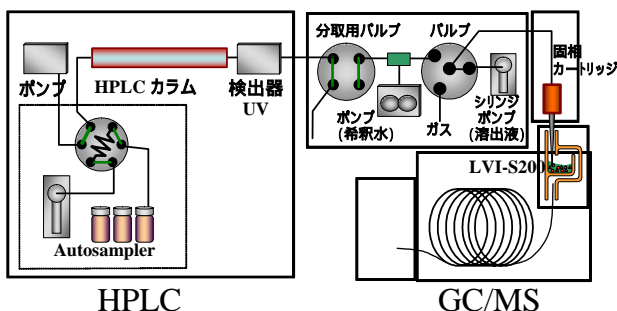


図 1. HPLC-GC/MS システム

【結果と考察】前処理: 前もって C18 のミニ固相カートリッジに通すことで、HPLC カラムの劣化の原因となる夾雑物を取り除いた。

HPLC-GC/MS システム: この簡易な前処理をいった水菜の抽出液を HPLC へ注入して得られた UV クロマトグラムと分取部分を図 2 に示す。予め標準溶液を用いて調べておいたホスチアゼートのリテンションタイム付近のみを分取するため、その分取部分以外の夾雑物は自動的に除去され効率的なクリーンアップが行われていることがわかる。そして、その分取した全量を GC へ導入できるため、高感度な分析が可能となった。本実験ではこの高感度を利用して、GC/MS での測定を SCAN 法で行った。この時のイオンクロマトグラムとそのピークから得られたスペクトルとライブラリスペクトル比較を図 3、4 に示す。クロマトグラムは夾雑物の影響もほとんどなくきれいなクロマトグラムを得ることができた。そして、そのスペクトルから定性能力も十分にあることがわかった。また添加回収試験 (n=6) における再現性も RSD 値が 5% 未満と良好な結果を得ることができた。

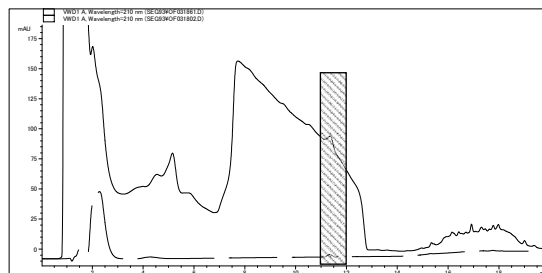


図 2. 水菜の HPLC-UV クロマトグラム (実線) と分取部分 (斜線)

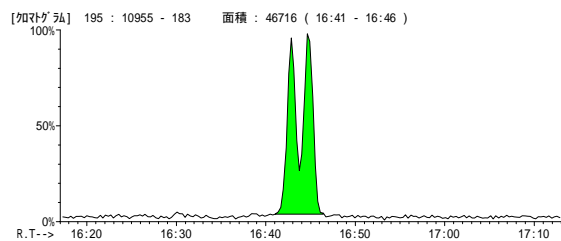


図 3. 水菜中ホスチアゼート添加回収試験 (0.05ppm) における GC/MS イオンクロマトグラム (m/z = 195)

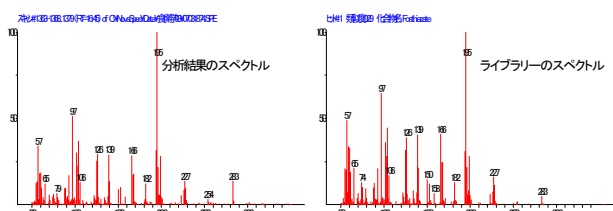




図 4. スペクトル比較



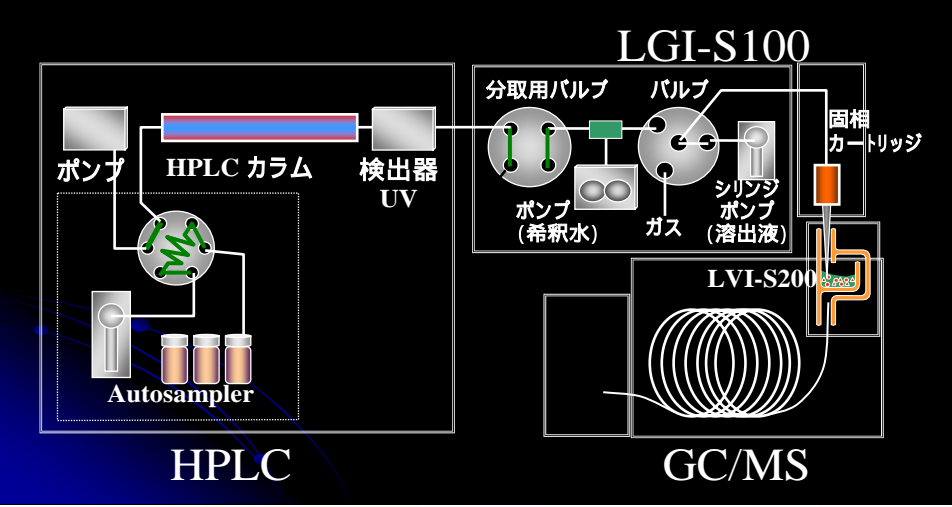
HPLC-GC/MSシステムを用いた 食品中残留農薬の個別分析への応用

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



HPLC-(SPE)-GCシステム



HPLC

GC/MS

AISTI SCIENCE

AS HPLC分取によるクリーンアップ効果

極性夾雑物 無極性夾雑物

分取 GC/MS

- HPLCを前処理として使用することで、クリーンアップを効率良く、効果的に行うことができる。

AISTI SCIENCE

AS Step-1 分取 & 濃縮

HPLC カラム ポンプ (水)

固相カートリッジ ニードル 廃液口

LCから分取しながら水を加えて、そのまま固相カートリッジに通し、目的物質を固相に吸着させる。

AISTI SCIENCE

Step-2 乾燥

窒素ガスで配管および固相中に残存しているLCの溶離液および水を除去する。

AISTI SCIENCE

Step-3 溶出 & 注入

固相に溶出液を流し、そのままGCへ導入する。

GC大量注入口 (LVI-S200)

AISTI SCIENCE

Step-4 洗浄

溶出溶媒で配管および固相を洗浄する。

AISTI SCIENCE

大量注入法

特徴
試料を液体状態でインサート内に保持できるため、条件設定が容易
インサート内の試料を低い温度でカラムへ導入できるため、
熱に弱い農薬などのような物質にも対応

胃袋型インサート

1st Stage 注入

2nd Stage 濃縮

3rd Stage 導入


4th Stage 除去

Split Mode

Splitless

Split Mode


AISTI SCIENCE



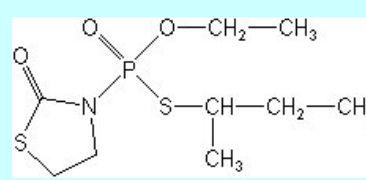
LC-GC/MS条件

<p>HPLC (MIDAS;Spark, Agilent 1100)</p> <p>Injection: 100 μL, Sample loop</p> <p>Column: 3.0 mm i.d. \times 100 mm Inertsil ODS-3</p> <p>Solvents: A: Water B: Acetonitrile</p> <p>Flow rate 0.5 mL/min</p> <p>Detector: UV 210 nm</p>	<p>Interface Injector (LVI-S200; AiSTI Science)</p> <p>Insert: Spiral Type Insert</p> <p>Solvent Vent: 0.5min, Purge flow 150mL/min</p> <p>Splitless: 4 min</p> <p>Inj. Temp.: 70°C(3min)-120°C/min-240°C/min (0.5min)-50°C/min-270°C(15min)</p>
<p>Interface SPE(LGI-S100; AiSTI Science)</p> <p>SPE: 2 mm i.d. \times 10 mm C18</p> <p>Diluting: Water 1 mL/min</p> <p>Purge: N₂ gas, 1 min</p> <p>Elution: Acetone/Hexane(1/3), 50μL</p>	<p>GC/MS (Jms-Q1000GC; JEOL)</p> <p>Column: ENV-5MS 0.25 mm i.d. \times 30 m, 0.25 mm</p> <p>Oven: 60°C(4min)-15°C/min-300°C(3min)</p> <p>Carr. gas: He, 1 mL/min</p> <p>MS: SCAN;50-300 mz</p>

AISTI SCIENCE



ホスチアゼート (Fosthiazate)


<p>物性</p> <p>Mol. wt. 283.3</p> <p>Chemical Formula C₉H₁₈NO₃PS₂</p> <p>Physical State Pale yellow liquid</p> <p>Chemical Group 有機リン系農薬</p> <p>Pesticide Type 殺虫剤、線虫駆除剤</p> <p>B.p. 198 /0.5 mmHg</p> <p>V.p. 0.56 mPa (25)</p> <p>Log Pow = 1.68</p> <p>Solubility In water 9.85 g/l (20).</p> <p>Stability In water, DT50 3 d (pH 9, 25)</p>	<p>構造式</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p>基準値</p> <p>ミズナ: 0.1 ppm</p> <p>イチゴ: 0.05 ppm</p>
---	--

AISTI SCIENCE

前処理

試料 20g
|
CH₃CN 50 mL
ホモジナイズ
抽出
|
CH₃CN 20 mL
定容
(ろ過液に水を加え 100 mL に定容)

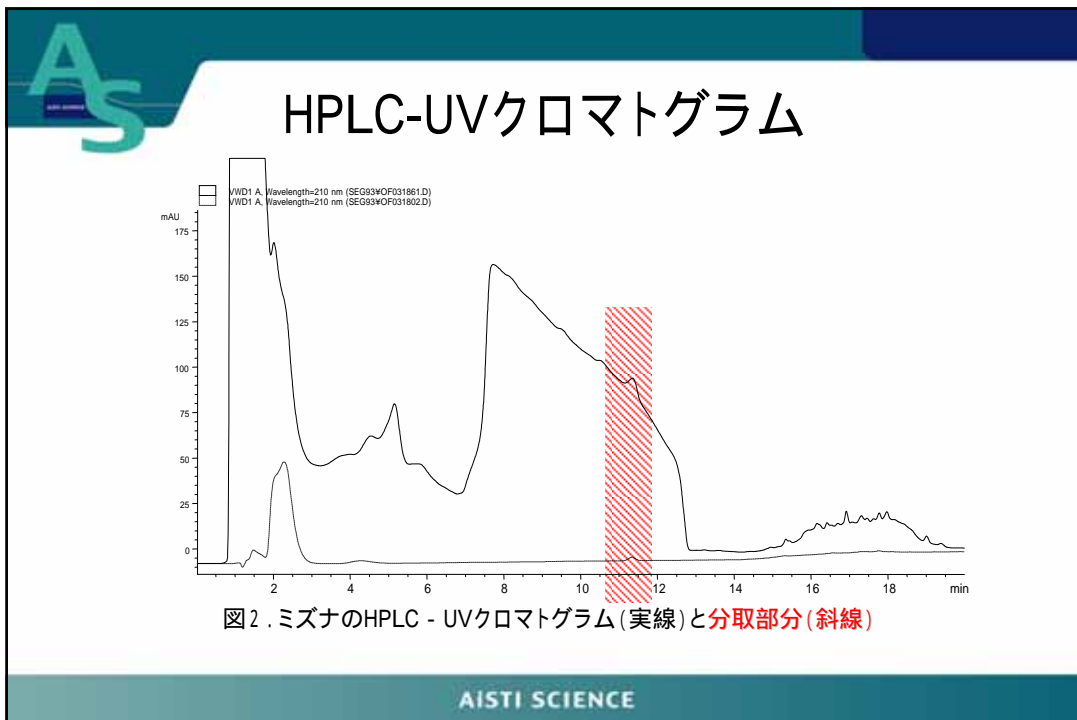
分取 2mL (試料 0.4 g 相当)
|
SAIKA-SPE C18-50mg (精製)
|
CH₃CN/water(1/1) 1mL
流出液
|
Water 1mL
定容 (4mL)

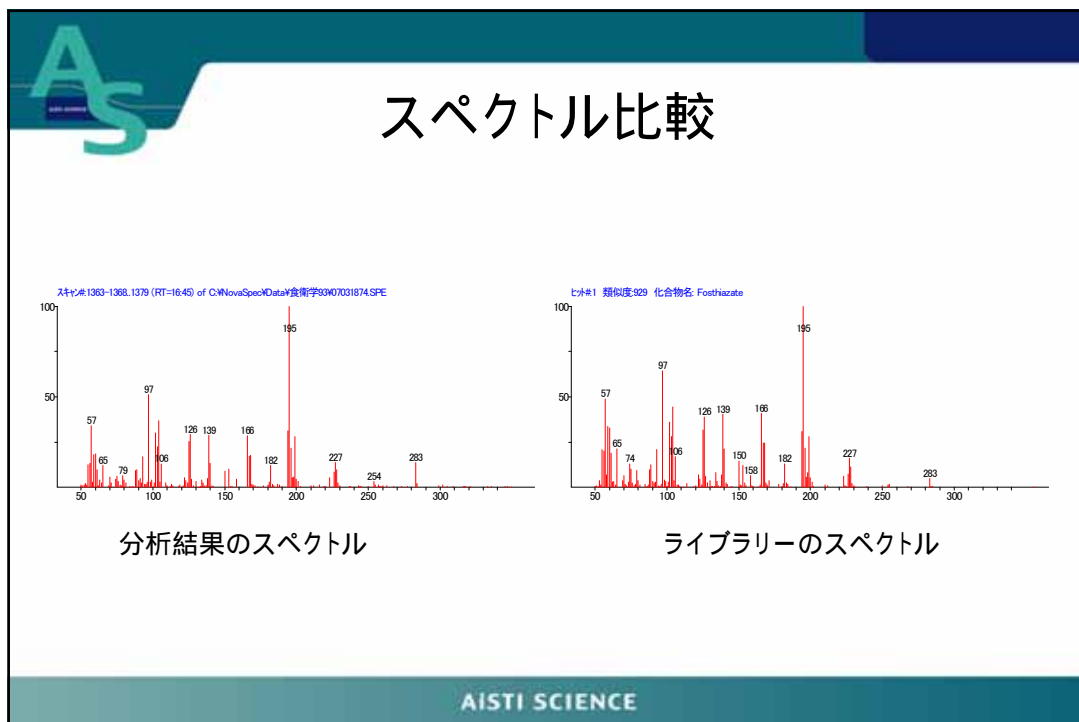
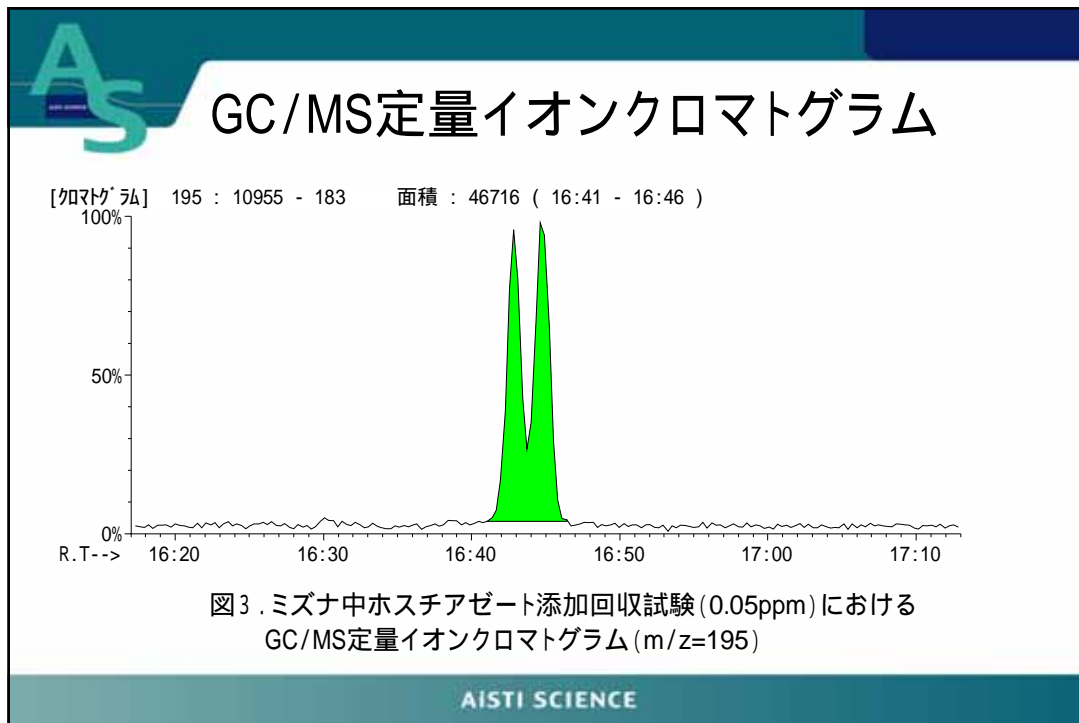



試験液はHPLCカラムの劣化を防ぐために、試料の抽出液を予めC18ミニカラムに通したものを用了。

10 min/6検体

AISTI SCIENCE









再現性

表1. 添加回収試験(試料中50 ppb)繰り返し分析の再現性 (n=6)

農作物	No.1 (ppb)	No.2 (ppb)	No.3 (ppb)	No.4 (ppb)	No.5 (ppb)	No.6 (ppb)	Ave. (ppb)	REC (%)	R.S.D. (%)
ミズナ	53.3	52.7	56.5	56.6	50.8	51.0	53.5	107.0	4.82
イチゴ	46.0	45.7	51.0	43.9	44.5	45.6	46.1	92.2	5.46

* ホモジナイス抽出後にFosthiazateを試料中0.05ppmになるように添加






分析サイクル時間

HPLC
GC/MS
LCリテンション
タイム確認
検量線作成用分析
測定試料分析

分析例

<p>6検体/1人(同一対象農薬)</p> <p>9:30-11:00; 抽出・前処理</p> <p>11:00-15:30; LC-GC/MS測定</p> <p>15:30-16:30; 解析・報告書作成</p>	<p>20検体/1人(同一対象農薬)</p> <p>13:00-16:30; 抽出・前処理</p> <p>16:30-翌日10:00; LC-GC/MS測定</p> <p>10:00-11:00; 解析</p> <p>11:00-12:00; 報告書作成</p>
---	---





まとめ

HPLC-GC/MSシステムを用いた食品中残留農薬(ホスチアゼート)の個別分析への応用を試みた。

HPLCを前処理装置として用いているため、効率の良いクリーンアップ効果を得ることができた。

分取した全量をGCへ導入できるため、高感度な分析が可能となり、SCAN法での測定が可能となった。

SCAN法による測定により、定性も可能となった。

添加回収試験における再現性もRSD値が5%以内と良好な結果を得ることができた。

迅速な個別分析法として有効であることがわかった。