

## 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

【目的】GC大量注入法の利点として、感度向上のみならず、試料量の少量化や濃縮操作の省略などによる前処理における簡易化や迅速化が挙げられる。そこで従来の食品中残留農薬分析において、簡易化および迅速化を目的としたGC大量注入法による前処理法を評価することを目的とした。例として QuEChERS 法と通知法を組み合わせた前処理法<sup>1)</sup>を従来法とし、GC大量注入法を用いて改良した前処理を本法として評価を行った。

【方法】1. 対象農薬: ポジティブリスト制度 GC/MS 対象 50 種(農薬混合標準液 22)、85 種(農薬混合標準液 31)、GC/MS 対象 46 種(農薬混合標準液 34)、GC/MS 対象 61 種(農薬混合標準液 48)、GC/MS 対象 26 種(農薬混合標準液 51)、GC/MS 対象 13 種(農薬混合標準液 1111)(関東化学)、合計 281 種。固相カートリッジ: SAIKA-SPE(アイスティサイエンス)

2. 試料: ほうれん草、他

3. 添加濃度: 0.01ppm、0.05ppm

4. 試料調製

試料 10g

アセトニトリル 20mL

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

攪拌(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(20mL、アセトニトリルで調製)

分取 1mL(試料0.5g相当)

固相C18-30mg(精製)

洗液 アセトニトリル 0.2mL

流出液

添加 トルエン 0.4mL

固相GCS-20mg+PSA-30mg(精製)

洗液 アセトニトリル:トルエン(3:1) 0.3mL

流出液

添加 フェナントレン-d + ホリエフレングリコール300

定容(2mL: 試料0.5g相当)

GC/MS(SCAN+SIM)測定

大量注入法: 20 $\mu$ L注入(試料0.5mg相当)

Scheme 1. 試験溶液の調製法

5. 測定条件

LVI-S200(アイスティサイエンス)、胃袋型インサート  
100°C(0.4min)-120°C/min-240°C(1min)

-50°C/min-270°C(30min)

Q1000GC(日本電子)

0.25mm i.d.  $\times$  0.5m

ENV-5ms 0.25mm i.d.  $\times$  30m, df 0.25 $\mu$ m

0.25mm i.d.  $\times$  0.5m

60°C(4min)-20°C/min-160°C-5°C/min-220°C-  
3°C/min-235°C-7°C/min-310°C(8min)

コンスタントフロー: 1ml/min

150ml/min(0.38min)-0ml/min(4min)-30ml/min

20 $\mu$ l

【結果と考察】

1. 前処理方法: 抽出操作は従来通りに行い定容した。その定容液から1mLを分取し、固相C18に通した。次にその固相C18からの流出液(アセトニトリル 100%)にトルエン 0.4mLを加えることで溶媒環境をアセトニトリル/トルエン(3/1)とし、固相GCS(グラファイトカーボン)+PSAに通すことで通知法と同様の操作状況にした。そしてその流出液をそのままメス試験管で定容した。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、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て、迅速化へ導くことができた。

2. 精製について: ほとんど従来法を小型化した操作になっていることから、従来法とほぼ同じ精製効果であることが予想される。

3. 回収率について: 通常エバポレーターを使用すると揮発性の高い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こともありDDVPの回収率は90%以上と良好であった。

4. 前処理時間: 分取後から定容するまでの前処理は10検体でわずか15分で終了した。

5. 測定機器の耐久性: 本法は従来法と比較してGCへ注入する試料の絶対量がほぼ同じになるように分取量と注入量を調整しているため、測定機器の耐久性も従来法と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ことがわかった。

【参考文献】1) Masahiro Okihashi, Food 1 (2007)101-110,



# 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, MgSO<sub>4</sub> 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)

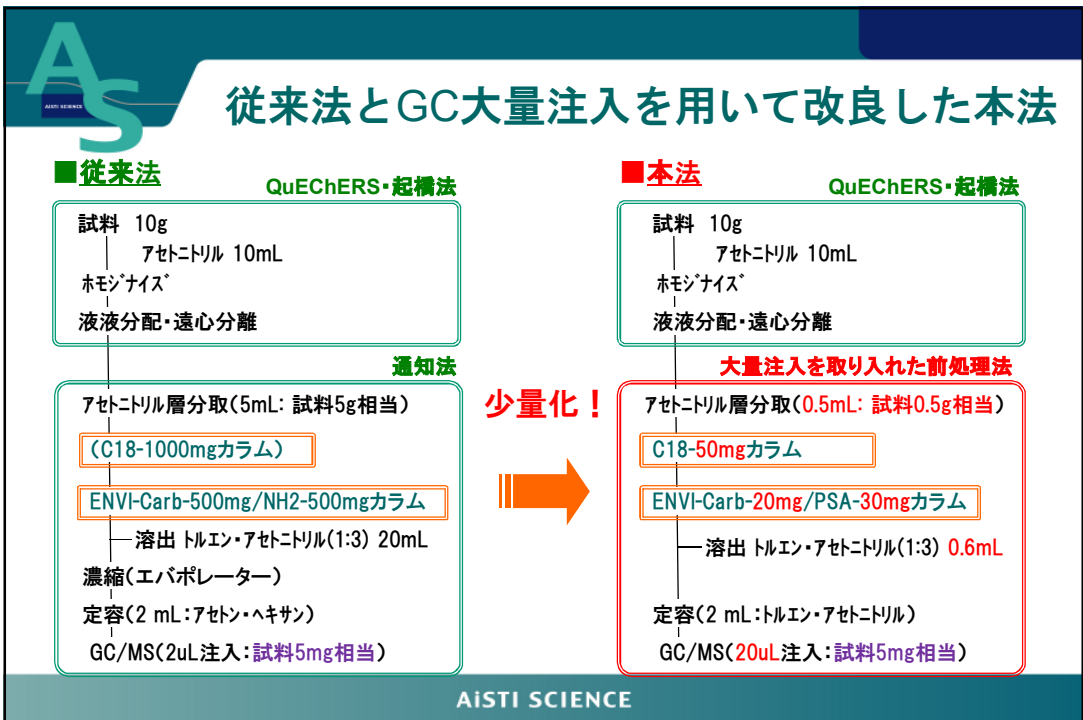
操作性！

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<sup>®</sup>
  - 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
  - MgSO<sub>4</sub>(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<sup>®</sup>
- NaCl 1g
  - クエン酸3Na2水和物 1g
  - クエン酸水素2Na1.5水和物 0.5g
  - MgSO<sub>4</sub> 4g

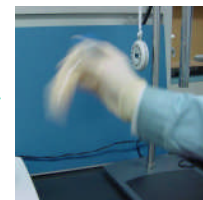
攪拌(手で振とう 1分間)



塩 4種類



①ホモンナイス<sup>®</sup>



②攪拌

## 2. 液液分配

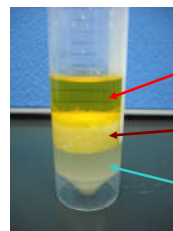
遠心分離  
(3000rpm 5分間)  
—  
(液液分配)



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

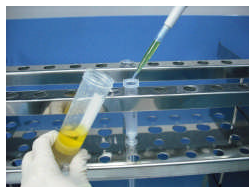
## 3. ミニカラム精製①

分取 0.5mL (試料 0.5 g 相当)

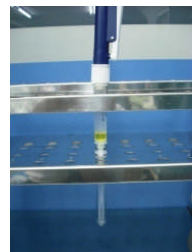
C18-50mg

— 溶出 アセトニトリル 0.5mL

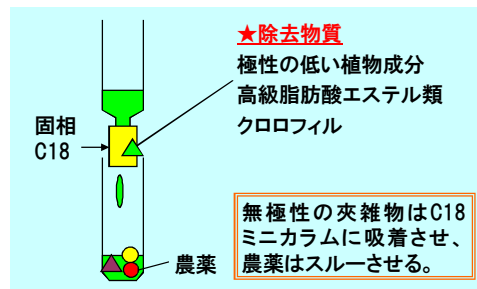
流出液



分取 0.5mL



C18に通液

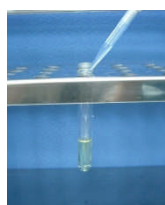


AISTI SCIENCE

## 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

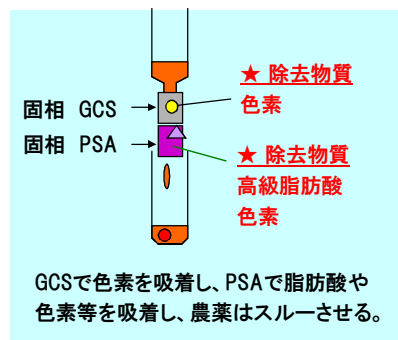
定容(2mL)



トルエン 0.3mL



C18 50mg/mlに通液



AISTI SCIENCE

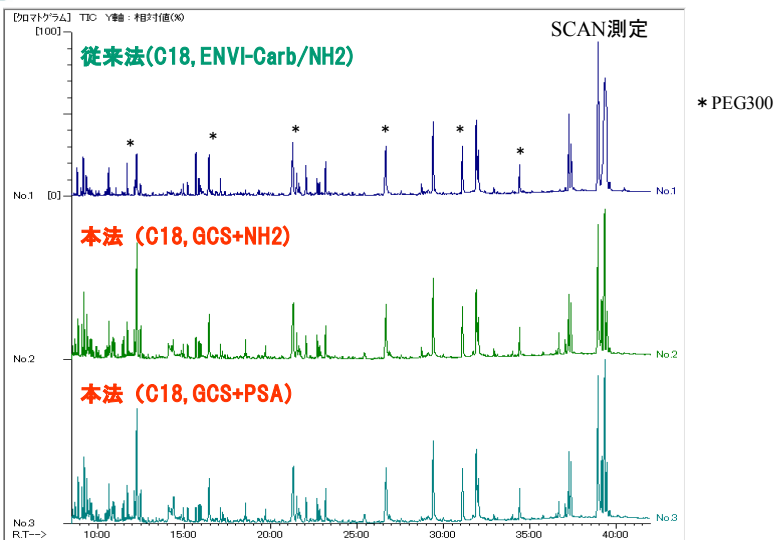
## GC/MS条件

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	<b>ENV-5MS, 0.25mm i.d. × 30m, df: 0.25µm</b>
Column Oven Temp.	<b>60°C(4min)-20°C/min-160°C-5°C/min-220°C-3°C/min-235°C-7°C/min-310°C(8min)</b>
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	<b>SCAN: 50 - 450 m/z, SIM</b>

AISTI SCIENCE



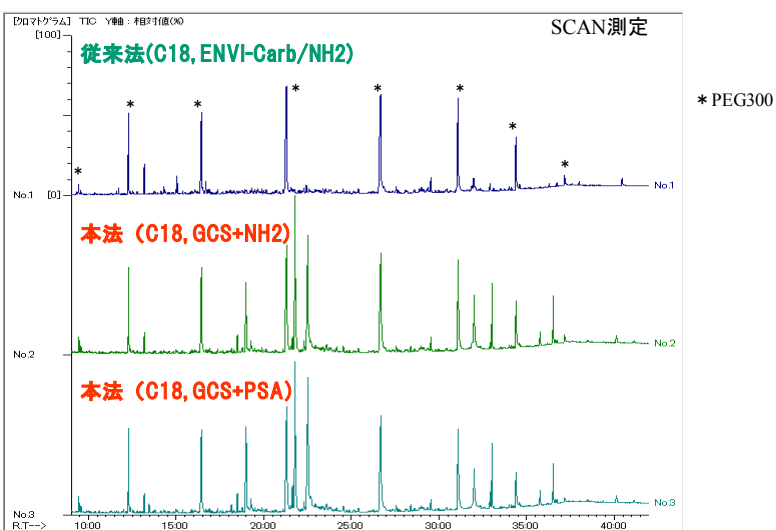
## 固相ミニカラムによる精製効果(オレンジ)



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0.01 ppm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