

IC-HRMSを用いた高極性農薬一斉分析法の検討

一般財団法人日本食品検査
事業本部 試験部門

キーワード

イオンクロマトグラフ、高分解能質量分析計、高極性農薬、一斉分析

はじめに

日本国内における食品中の高極性農薬を対象とした公示試験法の多くには個別分析法が採用されています。これらはかなり昔に開発されたものであるため、発がん性のあるジクロロメタンやクロロホルムなどを用いる、液液分配、誘導体化、オープンカラムクロマトグラフィーなどの煩雑な前処理操作が必要な、多岐にわたる測定機器を揃えなければならない、といった問題点が挙げられます。一方、欧州では、上述した問題点を克服した一斉分析法QuPpe Method^{1), 2)}が近年開発され注目を集めています。そこで今回、QuPpe Methodのような簡便な方法で、イオンクロマトグラフ-高分解能質量分析計 (IC-HRMS) を用いた高極性農薬一斉分析法の検討を行いました。

測定条件

イオンクロマトグラフ (IC) 条件

装置:	Thermo Scientific™ Dionex™ ICS-6000 HPICシステム
カラム:	Thermo Scientific™ Dionex™ IonPack™ AS11HC-4 μm分析カラム、2×250 mm Thermo Scientific™ Dionex™ IonPack™ AG 11HC-4 μmガードカラム、2×50 mm
カラム温度:	30 °C
溶離液:	KOH (Thermo Scientific™ Dionex™ EGC 500 カートリッジ使用)
流量:	0.25 mL/min
KOH濃度	1 mmol/L (0~1 min)
グラジエント:	50 mmol/L (1~25 min) 50 mmol/L (25~30 min) 1 mmol/L (30~35 min)
サプレッサー:	Thermo Scientific™ Dionex™ AERS™ 500 Carbonate 電解再生サプレッサー (2 mm)
サプレッサー温度:	15 °C
メイクアップ溶媒:	5 mMアンモニア含有メタノール
メイクアップ溶媒流量:	0.1 mL/min
試料注入量:	5 μL

高分解能質量分析計 (HRMS) 条件

装置:	Thermo Scientific™ Q Exactive™ Focus 四重極/Orbitrap ハイブリッド質量分析計
イオン化法:	ESI (pos/neg Switching)
測定モード:	SIM
分解能:	70,000 (<i>m/z</i> 200)
Sheath gas flow rate:	50
Aux gas flow rate:	15
Spray voltage:	3.5 kV (Positive) 3.0 kV (Negative)
Capillary temp.:	300 °C
S-Lens level:	50
Aux gas heater temp.:	200 °C

対象化合物

ホセチル、アセフェート、グルホシネート、N-アセチルグルホシネート、3-ヒドロキシメチルホスフィニコプロピオン酸 (MPPA)、アミノメチルリン酸 (AMPA)、亜リン酸、エテホン、クロピラリド、グリホサートの計10種類の化合物を対象としました。

サンプル前処理

サンプルは、市販ほうれん草および市販大豆を用いました。ほうれん草はドライアイスを用いた凍結粉碎法で、大豆はミルキサーを用いてそれぞれ均一化しました。QuPpe Methodでは、安定同位体標識標準溶液を用いた内標準法を採用していますが、低回収率の農薬のみに内標準法を用いることでコストを削減できるため、本検討ではまず絶対検量線法を用いて各農薬の回収率の確認を行いました。抽出液を希釈することで、できるだけマトリックス効果の影響を小さくするようにしました。検討したサンプル前処理フローを図1に示しました。

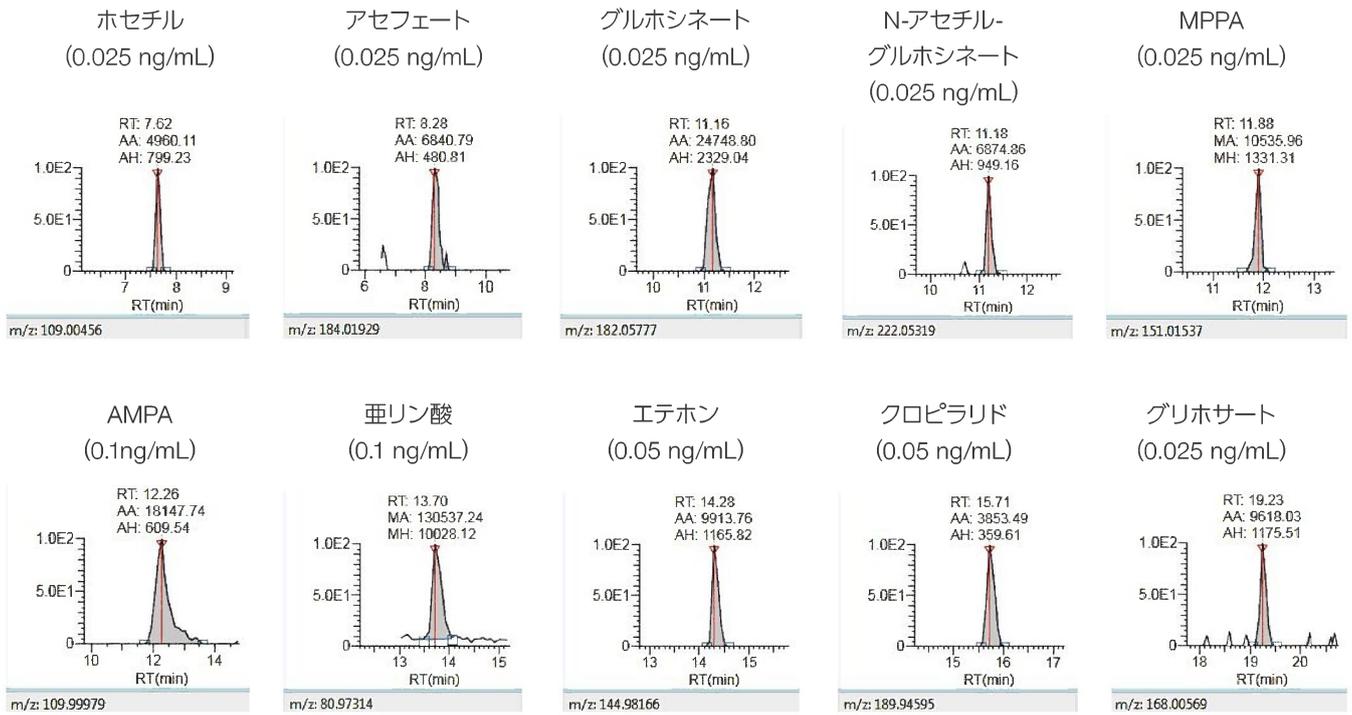


図2. 対象化合物の抽出イオンクロマトグラム

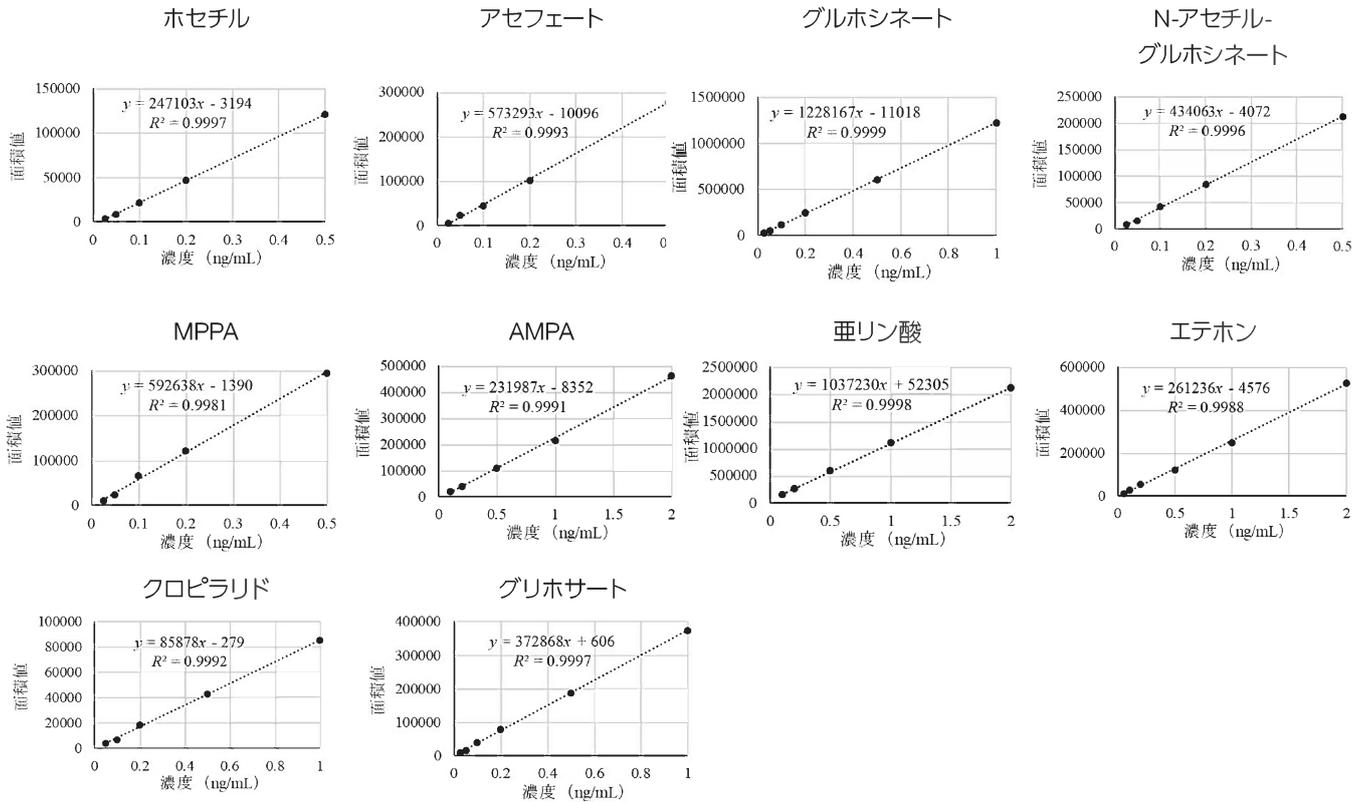


図3. 対象化合物の検量線

マトリックス効果の確認と添加回収率

本希釈率 (Dilution Factor: DF) と図1で示したフローで調製した陰性試料の測定溶液で標準溶液を調製し、マトリックスファクター (Matrix Factor: MF)⁴⁾ を算出した結果と、食品中の残留農薬の一律基準である10 mg/kgとなるように、ほうれん草および大豆に各化合物を添加して添加回収率を算出した結果を表2に示しました。ほうれん草の場合、10化合物中7化合物の添加回収率の平均値が70~120%の範囲に入りました。大豆の場合、ほうれん草に比べると添加回収率は低い傾向を示しますが、10化合物中5化合物の添加回収率の平均値が70~120%の範囲に入りました。MFと添加回収率から、試験系についてある程度評価することができ、たとえば、大豆におけるクロピラリドの添加回収率が低いのは、マトリックス効果ではなく抽出操作が原因と考えられます。また、亜リン酸やエテホンは、マトリックス効果の影響を大きく受けていることから、抽出液の精製工程を追加すれば、添加回収率が上がることが期待されます。

まとめ

今回、IC-HRMSを用いて簡便に高極性農薬の一斉分析ができるメソッドを開発しました。メイクアップ溶媒をメタノールから5 mMアンモニア含有メタノールに変更することで対象化合物の検出感度が上がることが確認できました。そのため、抽出操作後に精製工程を行わずに希釈操作のみでマトリックス効果のある程度抑えられることがわかりました。

今後は、添加回収率が低かった化合物に対して、抽出方法の見直しや精製方法の検討を行うとともに、対象化合物の拡張を図りたいと考えています。

参考文献

- 1) M. Anastassiades, et al, QuPPe-PO-Method, EURL-SRM.
- 2) M. Anastassiades, et al, QuPPe-AO-Method, EURL-SRM.
- 3) 中野裕太ら, 分析化学, 69 (3), 141-150 (2020).
- 4) JIS K0124 (2011) 高速液体クロマトグラフィー通則.8.1.3.3 マトリックス効果

表2. DF、MF、添加回収率の結果

化合物	ほうれん草			大豆		
	DF	MF ^{※1}	添加回収率 (%) ^{※2}	DF	MF ^{※1}	添加回収率 (%) ^{※2}
ホセチル	200	0.78	74.1	100	0.96	74.9
アセフェート	200	0.97	92.4	100	0.95	84.6
グルホシネート	50	1.08	106.2	200	1.08	83.8
N-アセチルグルホシネート	50	1.08	79.1	200	1	71.8
MPPA	200	1.05	90.5	200	1.05	71.2
AMPA ^{※3}	50	0.99	66.7	-	-	-
亜リン酸 ^{※4}	50	0.6	43	-	-	-
エテホン	50	0.59	44.3	100	0.31	32.7
クロピラリド	50	0.98	72.4	100	0.9	28
グリホサート	50	0.96	96.3	100	0.94	77.6

※1 n=1

※2 n=3の平均値

※3 大豆試料のAMPAは、DF=100で10 mg/kg相当のピークが不検出のため未評価

※4 大豆試料の亜リン酸は、陰性試料が入手できなかったため未評価

研究用のみ使用できます。診断用には使用いただけません。

© 2020, 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

実際の価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。

価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。

標準販売条件はこちらをご覧ください。thermofisher.com/jp-tc IC236-B22020B

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL : 0120-753-670 FAX : 0120-753-671

Analyze.jp@thermofisher.com

facebook.com/ThermoFisherJapan

@ThermoFisherJP

thermofisher.com

代理店

ダイオテック東京株式会社

東京都台東区東上野6-2-1

DIO

TEL : 03-3842-4882

https://www.diotec.co.jp

Mail : info@diotec.co.jp

thermo scientific