

遠心処理を利用した多機能型固相カラムによる残留農薬の迅速前処理法

○国枝 巧、坂井 拓斗、陳 杏玲、高柳 学、太田 茂徳（ジーエルサイエンス株式会社）



目的

残留農薬分析において、前処理工程の簡略化を目的とした様々な迅速前処理法が検討されている。我々はこれまで、抽出方法にQuEChERS(EN)法、精製方法には固相抽出カラムを用いた手法を検討し、前処理フローの確立と固相抽出カラム『InertSep AL-N/VRA-PR』を開発した。この固相抽出カラムはAL-Nの下にC18・SAX・PSAの3種類のクリーンアップ剤を混合した充填剤を積層させた残留農薬用迅速前処理カートリッジである。QuEChERS抽出液を負荷したあと、少量のアセトニトリルで追加溶出する事で、色素や脂肪酸の除去が可能である。しかしながら、固相抽出操作は細かい操作技術が要求されるため、個人差が出やすいとされている。操作を遠心処理に置き換えることが可能であれば、処理パラメーターの数値化ができるため、操作手法に起因する個人差を排除することができる。その上、吸引マニホールドシステム等も不要であるため、より手軽に扱うことができる。今回、固相抽出操作を遠心処理にて行う方法を検討し、一定の知見が得られたため報告を行う。

InertSep AL-N/VRA-PRによる前処理

前処理フローをFig.1に示す。抽出工程はQuEChERS(EN)法を参考に作製した。抽出液2 mL（ほうれん草2 g および玄小麦1 g 相当）に各農薬が250 ng/mLとなるように農薬混合標準溶液を添加した。精製はアセトニトリルでコンディショニングしたInertSep AL-N/VRA-PRを用いて行った。一連の精製工程において、固相抽出用の吸引マニホールド等は使用せず、コンディショニングおよび試料負荷は自然落下で行い、溶出工程は遠心分離機を用いて、溶出液を50 mL遠沈管に採取した（Fig.2）。

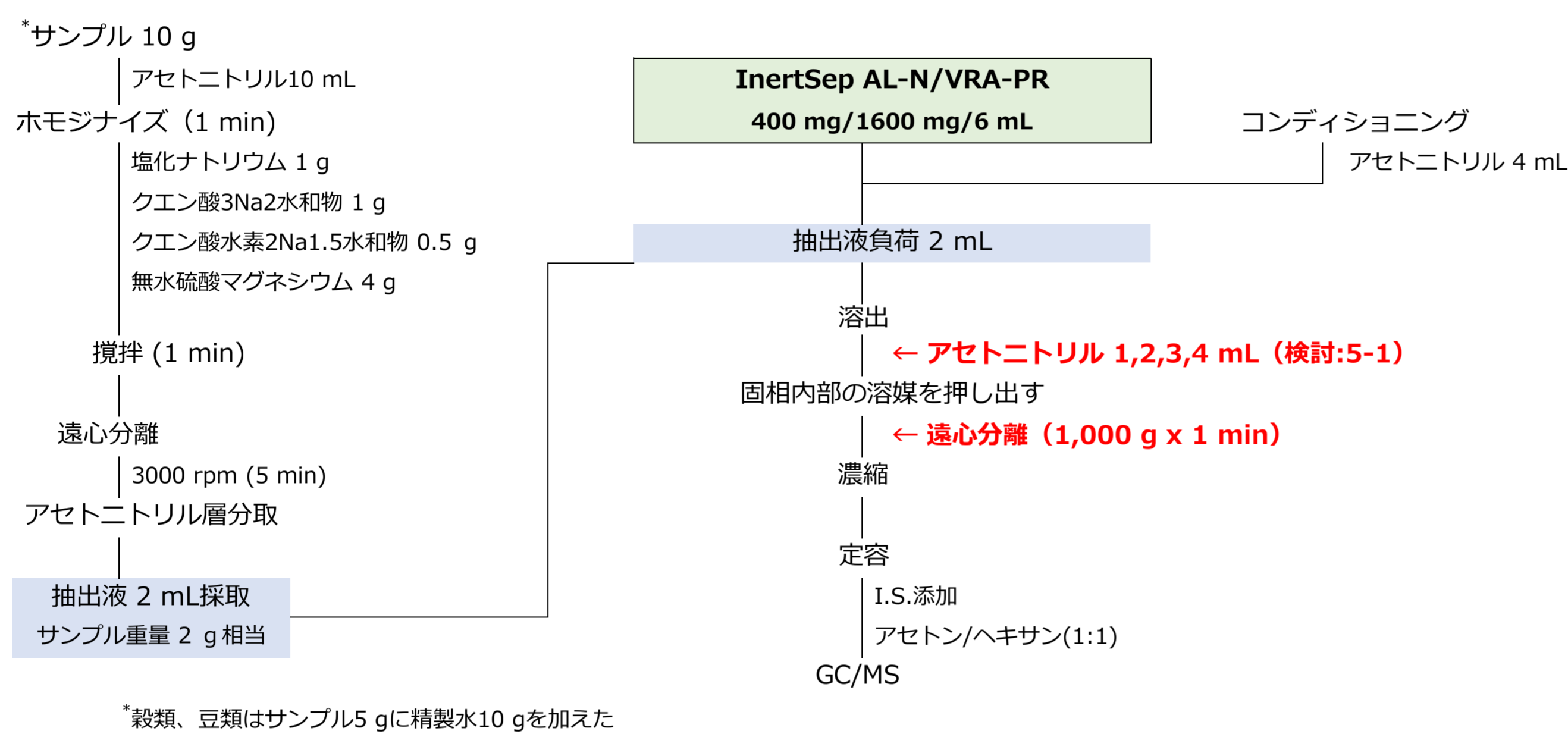


Fig.1 前処理フロー図



Fig.2 遠心処理で使ったアダプター、遠沈管

測定対象農薬・分析条件

【対象農薬】
測定対象農薬はPL2005農薬GC/MS Mix IV, V, VI（林純薬工業社製）とした。

【分析条件】

Table.1 GC/MS測定条件

System	GC: GC-2030 MS: GCMS-QP 2020 NX(島津製作所)
Column	InertCap 5MS/Sil (GL Sciences Inc.) 0.25 mm I.D. × 30 m, df = 0.25 μm
Col. Temp.	50 °C (3 min hold) - 10 °C /min - 200 °C - 3 °C /min - 230 °C (5 min hold) - 5 °C /min - 300 °C (2 min hold)
Carrier Gas	He 100 kPa
Injection	Splitless 1 min 200 °C
Detection	MS SIM
Interface Temp.	250 °C
Sample	1.0 μL

結果

(検討1: 溶出工程に遠心処理を用いた際の農薬類の溶出挙動に関する検討)

吸引マニホールドを用いた処理から遠心処理に置き換えるにあたり、農薬類の溶出パターンを確認することとした。アセトニトリル溶液に農薬混合標準溶液を一定量スパイクして試料溶液を作製した。この試料溶液2 mLを固相抽出カラムへ通液処理した後、追加溶出溶媒としてアセトニトリル溶液をそれぞれ1、2、3、4 mL負荷し、遠心処理（1,000 g×1 min）により溶出した際の挙動を確認した。各処理方法における農薬類の溶出挙動をFig.3に示す。結果として、どちらの処理方法も2 mLの溶出溶媒量で大半の農薬類が溶出されており、3 mL以降で顕著に溶出される農薬は確認されなかった。以上の結果より、遠心処理による溶出は吸引マニホールドを用いて処理する場合と比較して同等以上の結果が得られる手法であることが認められた。

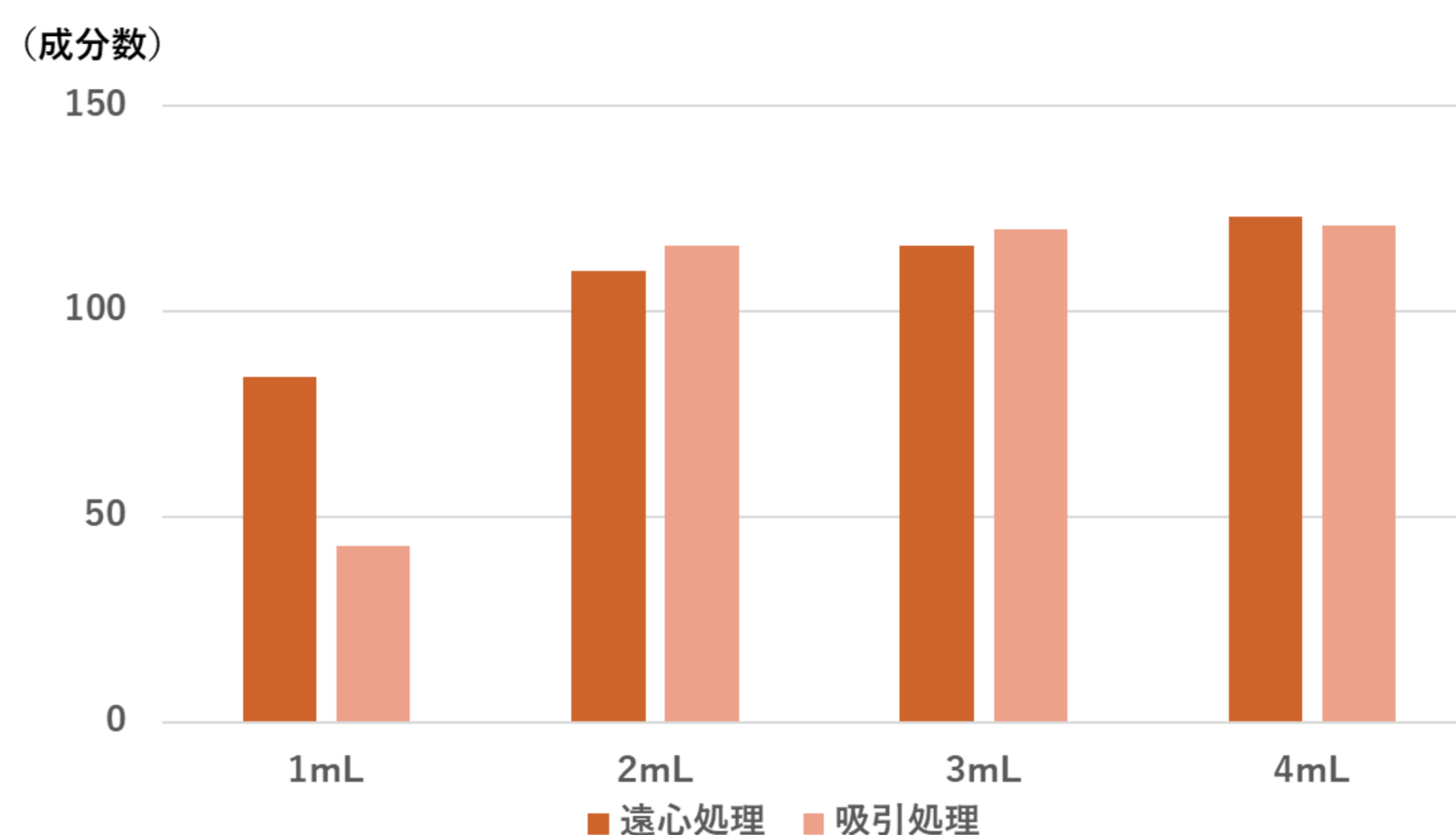


Fig.3 各処理方法における70~120%の回収率が得られた成分数

(検討2: 遠心処理を利用した抽出液スパイクによるGC/MS対象農薬の回収試験)

検討1の結果を踏まえて、抽出液スパイクによる回収試験を行った。Fig.1に示したフロー図の通り、QuEChERS(EN)法を参考に作製した抽出液2 mL（ほうれん草2 g、玄小麦1 g相当）に各農薬が250 ng/mLとなるように農薬混合標準溶液を添加した。固相抽出カラムはInertSep AL-N/VRA-PRを用いて精製を行った。追加溶出溶媒量はアセトニトリル2 mL、4 mLとし、遠心処理（1,000 g×1 min）により溶出液を50 mL遠沈管に採取してGC/MSで分析した。溶出溶媒量4 mLで行った回収率結果をTable.2、2 mLで行った結果をTable.3に示した。70~120%の回収率を得られた農薬類の成分数はいずれの方法においても**162成分中、120~130成分と良好な結果**を示し、各種処理方法による結果に大きな差は無かった。溶出溶媒量の違いについては、4 mL溶出の場合、120%以上の異常回収率を示す農薬が若干多く、70%以下の低回収率の農薬数は少ない傾向にあった。2 mL溶出については逆の傾向を示し、120%以上の異常回収率を示す農薬が若干減少し、70%以下の低回収率の農薬数は増加する傾向にあった。溶出溶媒量が多い場合、農薬類の溶出効率が上がる反面、固相抽出カラムに保持されていたサンプル中の夾雑成分が漏出することで、分析時のマトリックス効果を引き起こし、このような結果になったものと考えられた。

Table.2 抽出液スパイクによるGC/MS対象農薬の回収率結果（4 mL溶出）

回収率(%)	遠心処理		マニホールド処理	
	麦	ほうれん草	麦	ほうれん草
>120	35	22	29	18
70~120	120	129	126	129
<70	7	11	7	15

Table.3 抽出液スパイクによるGC/MS対象農薬の回収率結果（2 mL溶出）

回収率(%)	遠心処理		マニホールド処理	
	麦	ほうれん草	麦	ほうれん草
>120	16	13	21	12
70~120	130	130	127	127
<70	16	19	14	23

まとめ

本検討では、以前に検討した残留農薬用迅速前処理カートリッジを用いた方法をベースに、固相抽出操作に遠心処理を利用して、GC/MS対象農薬の一斉分析法の検討を行った。InertSep AL-N/VRA-PR (400 mg/1600 mg/6 mL)を用いて、試験を行った結果、吸引マニホールドを用いた場合と同等の結果が得られた。遠心処理を利用することで、以前より個人差が出にくい処理方法の確立が可能であると考えられ、GC/MS対象農薬を1つの固相カラムで一斉分析が可能であることが示唆された。溶出溶媒量とマトリックスのバランスについては更なる検討が必要と考えられるため、今後の課題としたい。

参考文献

- 国枝ら, "残留農薬用迅速前処理カートリッジを用いた加工食品中の残留農薬分析法の検討", 第46 回農薬残留分析研究会要旨集(2023)
- 国枝ら, "残留農薬迅速前処理のための多機能ミニカラムを用いたLCMS対象農薬一斉分析法の検討", 第45 回農薬残留分析研究会要旨集(2022)