

はじめに

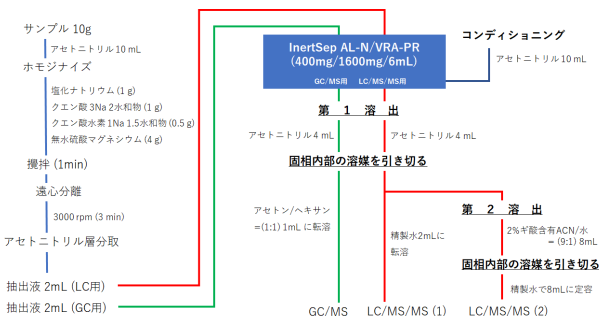
残留農薬分析において、抽出方法及び精製方法の簡略化が望まれている。昨年の検討では、QuEChERS抽出された試料液(作物として2g相当)を簡易に精製できる混合系固相カラム(InertSep AL-N/VRA-PR)を開発しGC/MS対象農薬に適応し良好な結果が得られた。今回は同じ固相カラムを用いてLC/MS対象農薬で試験を行った結果、極めて迅速に多数の農薬類を前処理可能となる方法が構築できたので報告を行う。

InertSep AL-N/VRA-PRによる前処理

InertSep AL-N/VRA-PR(400 mg/1600 mg/6 mL)とは・・・



- ✓ 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充填させた精製用固相カラム
- ✓ QuEChERS法に沿った手法で得られたアセトニトリル抽出液 2.0 mL (2.0 g 相当) を、溶媒転溶する事無くクリーンアップするために設計されている



分析方法

【GC 対象農薬測定条件 (169成分)】

System	GC-MS : 2010Plus (島津製作所社製)
Column	InertCap 5MS/Sil, 0.25mm I.D. x 30m df=0.25µm (ジーエルサイエンス社製)
Temp.	50°C(3min)-10°C/min-200°C-3°C/min-230°C-(5min)-5°C/min-300°C(3min)
Inj.	230 °C, 100kPa, 1µL

【LC/MS 対象農薬測定条件 (137成分)】

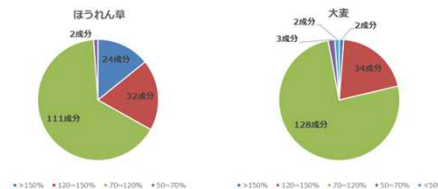
System	LC : Exion LC (サイエックス社製) MS : QTRAP6500+ (サイエックス社製)
Column	InertSustain C18 HP 3µm, 150 x 2.1mm I.D. (ジーエルサイエンス社製)
Eluent	A) 5mmol/L CH ₃ COONH ₄ in H ₂ O B) 5mmol/L CH ₃ COONH ₄ in CH ₃ OH A/B = 90/10 - 7min - 55/45 - 35min - 20/80 - 4min - 0/100 (5min hold) - 4min - 90/10 (10min hold)
Flow Rate	0.2 mL/min
Injection Vol.	5µL
Col. Temp.	40°C
MS/MS (ESI, Positive, Negative, MRM)	
Detection	Positive CUR CAD IS TEM GS1 GS2 25 10 4500 400 70 70 Negative CUR CAD IS TEM GS1 GS2 25 10 -4500 400 70 70

まとめ

InertSep AL-N/VRA-PR を用いることで、多くのLC/MS対象農薬類はアセトニトリルでの回収が可能であった。当初の想定通り酸性官能基を持つ一部の農薬では、溶出が困難である事が確認された。そのため、アセトニトリルで1段階目の溶出操作を行った後、2段階目の溶出として2%ギ酸-アセトニトリル/水=(9:1)を用いた結果バックグラウンドと酸性官能基を持つ農薬類回収率の双方の点でバランスの取れた溶出条件であることが確認された。前回の検討と本検討によりQuEChERS法で抽出された作物抽出液中に存在するGC/MS及びLC/MS対象農薬の多くの成分を1本の固相抽出カラムで前処理できる方法が構築できた。

結果

抽出液スパイクによる農薬類回収試験結果 (GC/MS対象)



本法によるGC/MS対象農薬の回収試験を行った。ほうれん草、大麦抽出液に農薬類を0.1ug/mLとなるように添加し、試料2mL(ほうれん草2g、大麦1g相当量)を精製用固相カラムで処理を行った(n=3)。結果、ほうれん草では169成分中111成分が、大麦では169成分中128成分が回収率70~120%の範囲内であった。

抽出液スパイクによる農薬類回収試験結果 (LC/MS/MS対象(1))

回収率 (%)	大麦	ほうれん草	にんじん	オレンジ
>150	0	1	0	0
120~150	1	1	2	1
70~120	106	110	111	96
30~70	13	8	7	15
<30	17	17	17	25

続いて、本法によるLC/MS対象農薬の回収試験を行った。大麦、ほうれん草、にんじん、オレンジの抽出液に農薬の混合標準溶液を100 ng/mLとなるように添加し、InertSep AL-N/VRA-PRで処理を行った(n=3)。第1段階溶出 (アセトニトリル) の回収率結果を示す。大半の農薬については良好な結果が得られたが、一部の農薬については回収率が低かった。回収できなかった成分の多くは酸性官能基を有する農薬であった。

抽出液スパイクによる農薬類回収試験結果 (LC/MS/MS対象(2))

回収率 (%)	第1段階溶出	第2段階溶出	計
>150	3	0	
120~150	1	0	
70~120	112	14	126
30~70	4	2	
<30	17	1	

溶出溶媒に2%ギ酸アセトニトリル/水(9:1)を用いてLC/MS対象農薬の回収試験を行った。ほうれん草の抽出液に農薬の混合標準溶液を100 ng/mLとなるように添加し、InertSep AL-N/VRA-PRで処理を行った(n=3)。結果、「LC/MS/MS対象(1)」の手法で回収が出来なかった酸性官能基を有する農薬(2,4-D, Trinexapac-ethyl, Fluazinam等)の回収率は良好な結果であった。第1段階溶出、第2段階溶出を合わせると137成分中、126成分が回収率70~120%の範囲内であった。本法は1つの固相で多くのLC/MS/MS対象農薬に対して適用可能であることが示唆された。