

ユーザーベネフィット

- ◆ 食品中のキャプタン、フォルペットおよび代謝物を迅速にモニタリング
- ◆ 複雑な食品マトリクスでも高感度、良好な再現性、優れた頑健性



■はじめに

キャプタン、フォルペットおよびそれらの代謝物は、農業用の殺菌剤として広く使用されており、これらの毒性を考慮して、食品中でのモニタリングがされています。フォルペットは、ブドウ畑や小麦、トマトなどの作物で最も使用されている農薬の一つです。キャプタンは、指令2007/5/ECによって指令91/414/EECの付属書Iに記載されている活性物質です¹⁾。これらの成分は、主にGC/MSで分析されていますが、熱分解の影響を受けて、頑健性が低下する場合があります²⁾。

本稿では、APCIを搭載したLCMS-8060を用いた高感度かつ高速モニタリング法を開発しましたので紹介します。本法によりEN 15662:2018に基づいて前処理した食品サンプルを分析したところ、(EC) No 396/2005またはFAO/WHO合同会議³⁾で示されている基準値を下回る定量限界値であることが明らかとなりました。また、抹茶のような複雑なマトリクスでも良好な再現性で、優れた頑健性が示されました。

■分析方法

分析条件

本稿では、食品中のキャプタンとフォルペットおよびそれらの代謝物であるテトラヒドロフタルイミド (THPI) とフタルイミド (PI) の測定を行いました。

キャプタンとPIは富士フィルム和光純薬株式会社から、フォルペットはRiedel-de Haën社から、THPIは東京化成工業株式会社からそれぞれ入手しました。

測定機器には、Nexera X2とAPCIインターフェイスを搭載したトリプル四重極型質量分析計LCMS-8060を使用しました。

各成分のMRMトランジションは、フローインジェクション分析 (FIA) によるメソッドの最適化を実施しました。インターフェイスパラメータも最適化することでイオン化および脱溶媒効率が改善し、感度向上が見られました。

本メソッドでは、0.1 %酢酸水でサンプル調製を行いました。酸の添加により、各成分を安定的に良好なピーク形状で検出することができました。HPLCおよびMSの分析条件を表1に示しました。

1) <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex:32007L0005>

2) http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/srm/EurlSrm_Observation_Captan_Folpet_LC-V1.pdf

3) https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44064/9789241665230_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y

表1 分析条件

[HPLC conditions] (Nexera UHPLC system)	
Column	: Shim-pack Scepter™ C18 (30 mm × 2.0 mm I.D., 1.9µm)
Column oven	: 40 °C
Solvent A	: Water+10 mM Ammonium acetate
Solvent B	: Methanol
Flow rate	: 0.2 mL/min
Injection volume	: 10 µL
Analysis time	: 10 min
[MS conditions] (LCMS-8060)	
Ionization	: APCI
Mode	: MRM
Nebulizing gas flow	: 3.0 L/min
Drying gas flow	: 3.0 L/min
DL temp.	: 150 °C
Block heater temp.	: 300 °C
Interface temp.	: 400 °C

検量線用標準溶液の調製

キャプタン、フォルペット、THPI、PI標準品を0.1 %ギ酸を含むアセトニトリルで溶解し、1 mg/mL 溶液を調製しました。さらに中間溶液の1 µg/mLと10 ng /mL溶液を希釈して、0.5, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 500, 1000 ng/mL に調製しました。これらを0.1 %酢酸水で5倍希釈して検量線用標準溶液としました。

サンプルの前処理

コメ、リンゴ、オレンジ、抹茶の4種の食品サンプルを用いて分析を行いました。これらのサンプルを、EN 15662 : 2018に従って前処理しました。QuEChERS Q-Sep® EN*1で抽出後、dSPE PSA/C18*1で精製しました。図 1にサンプル前処理の流れを示しました。

*1 Restek製品

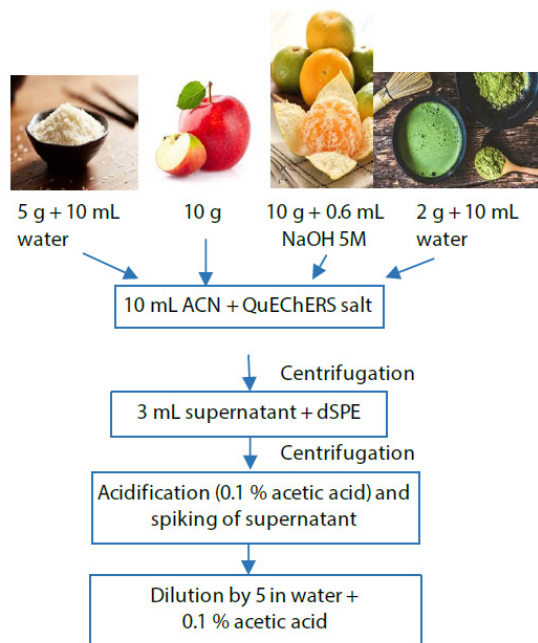


図1 サンプル前処理

■ 結果と考察

検量線

各成分の検量線を図 2に示しました。相関係数は0.99以上で検量点の正確さは、90 %~110 %でした。検量線用標準溶液（マトリクスなし；Matrix Solvent）での定量下限値（LOQ）は、いずれの成分も0.1 ng/mLでした。

キャリアオーバーとマトリクス干渉

キャリアオーバーを評価するために、検量線の最も高濃度溶液を注入後に溶媒を注入しました。キャリアオーバーは認められませんでした。次にスパイクなしのマトリクス抽出サンプルを注入してマトリクスの干渉を確認しました。本分析条件において、分析対象成分へのマトリクス干渉の影響は見られませんでした。

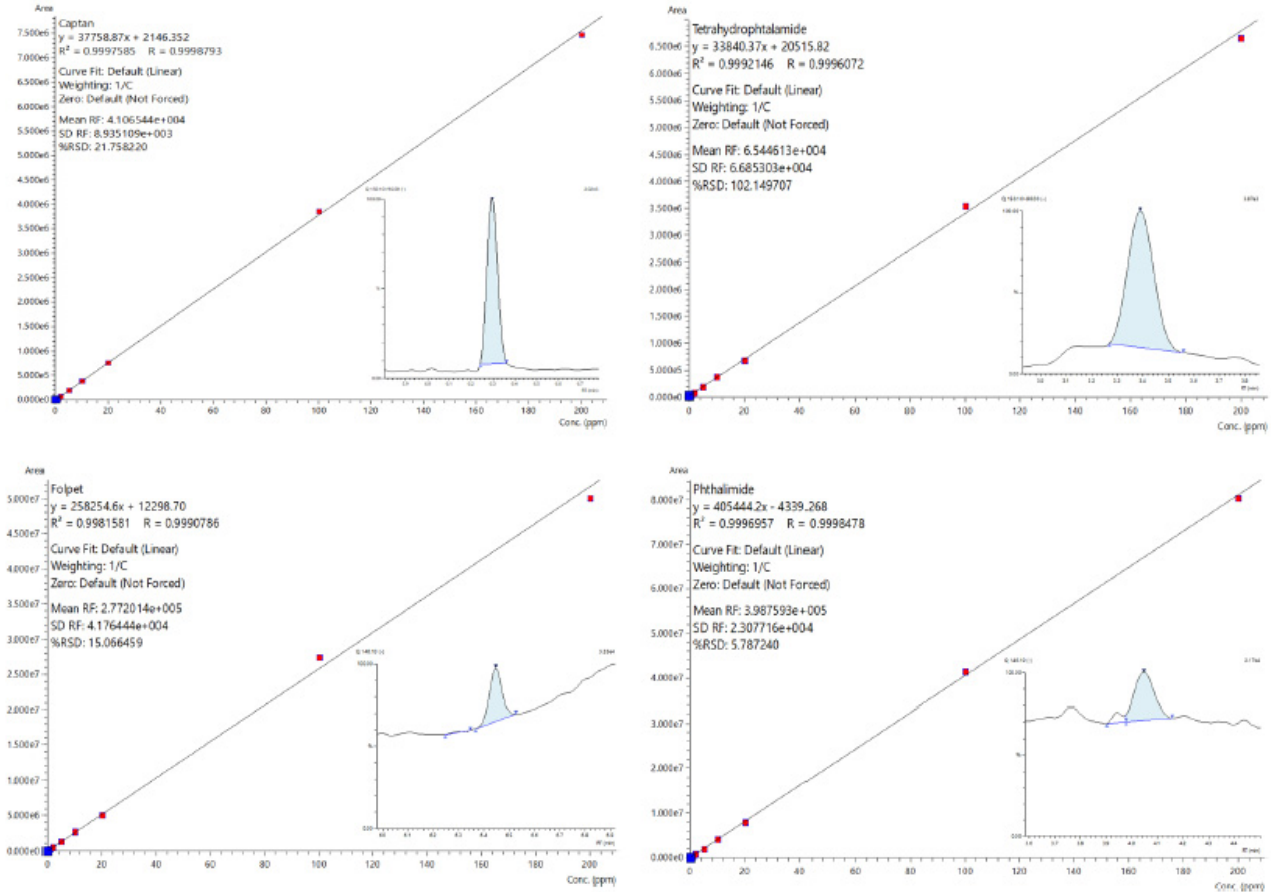


図 2 検量線およびMRMクロマトグラム (0.1 ng/mL)

表 2 食品マトリクス中における定量限界値

Limit of quantification (ppb)				
Matrix	Captan	Tetrahydrophthalimide	Folpet	Phthalimide
Solvent (ng/mL)	0.1	0.1	0.1	0.1
Tea	10	20	20	30
Rice	4	10	10	10
Mikan	1	5	5	10
Apple	1	5	5	5

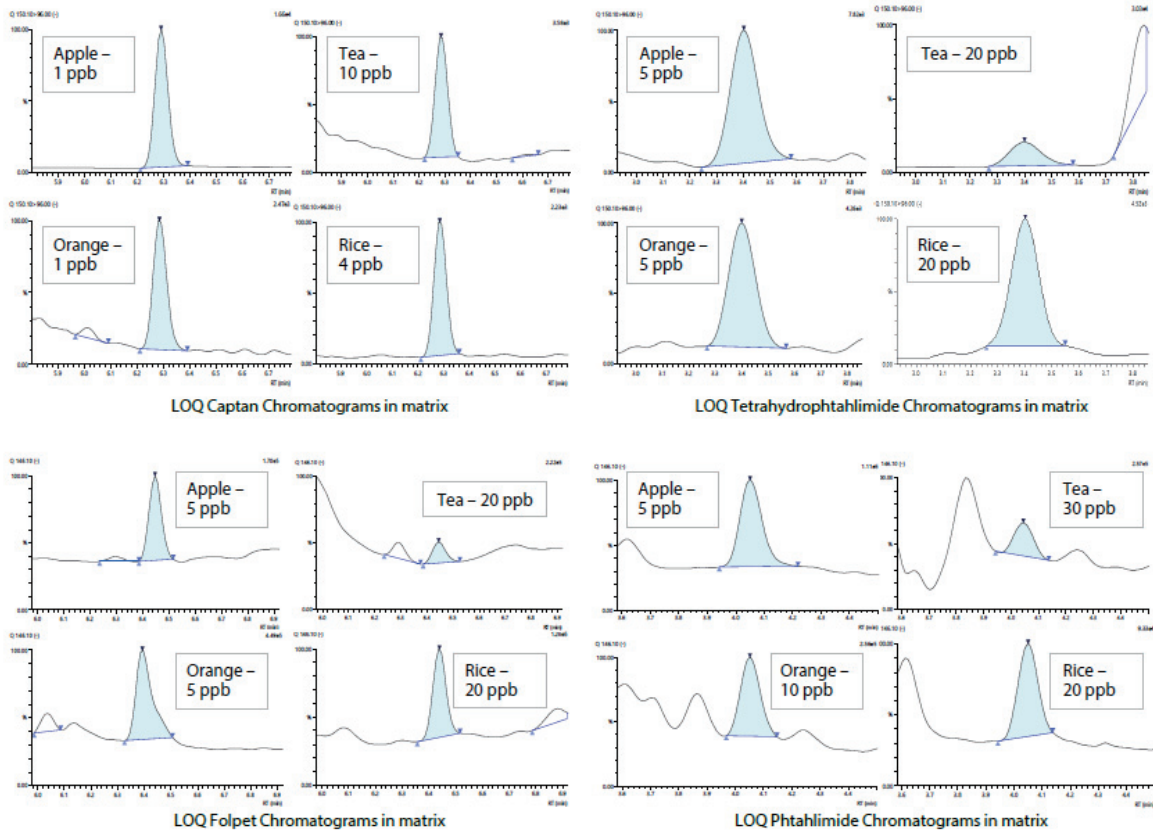


図3 食品マトリクス中におけるLOQのMRMクロマトグラム

定量限界

食品サンプル中での定量限界（LOQ）を確認するために、各サンプルを抽出し、異なる濃度で標準溶液を添加して測定を行いました。得られた結果を表2に示しました。マトリクスまたは化合物に応じてLOQは、1～30 ppbになりました。LOQでのMRMクロマトグラムを図3に示しました。

再現性

再現性は、マトリクス中での定量限界濃度におけるピーク面積値の再現性で評価しました。それぞれのサンプルを3回前処理して分析を行いました。それぞれの食品マトリクス存在下で、面積値再現性（%RSD）は、キャプタンで7～11%、THPIは2～11%、フォルペットは2～7%、PIは1～8%となりました。

■まとめ

LCMS-8060を用いて食品中のキャプタン、フォルペットおよびこれらの代謝物の測定が可能でした。本メソッドの分析時間は、10分で設定されています。今回開発した高感度メソッドは、マトリクス存在下でも、基準値以下の定量が可能でした。

また、頑健性も良好で、抹茶のような複雑なマトリクス存在下でも、11%（%RSD）以下の良好な再現性を得ることができました。

現在、キャプタンとフォルペットは主にGC/MSで分析されていますが、熱分解を受けやすい特性があり、THPIとPIを生成します。この熱分解は、GC/MSシステム（特にライナーとカラム入り口の状態）依存でコントロールが困難です²⁾。

今回の結果から、LC/MS法は、GC/MS法に代わる優れた分析法として活用が期待されます。

LCMS、Nexera、およびShim-pack Scepterは、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。Q-sepは、Restek Corporationの米国およびその他の国における商標または登録商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2020年11月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

改訂版は会員制サイト Solutions Navigator で閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>
閲覧には、会員制情報サービス Shim-Solutions Club にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

© Shimadzu Corporation, 2020