

食品中の残留農薬の測定のための、大気圧イオン化 (APGC) を用いた GC-MS/MS におけるキャリアガスとしての窒素の使用

David Gould, Simon Hird, Frank Dorman, Douglas Stevens

Waters Corporation

要約

タンデム四重極質量分析と組み合わせたガスクロマトグラフィー (GC-MS/MS) は、食品サンプルおよび環境サンプル中の残留農薬の検出および定量に使用されている強力な分析手法です。この手法では従来、ヘリウムをキャリアガスとして利用していました。近年、ヘリウムの調達が世界中で困難になったため、価格が大幅に上昇して入手困難になっています。これにより、一般的なガスクロマトグラフィーにおける代替のキャリアガスに対する関心が高まっています。窒素は、他の選択肢と比較して、容易に入手でき、比較的安価で安全です。以下のアプリケーションでは、ヘリウムキャリアガスを使用する大気圧イオン源 (APGC™ テクノロジー) を利用した GC-MS/MS 分析法から窒素キャリアガスを使用する分析法に容易に移管できることを実証します。APGC は、電子衝突イオン化 (EI) 分析と比較すると、選択性および感度が向上しており、キャリアとしてヘリウムを使用しても窒素を使用しても、APGC は同等の性能を示します。

キュウリの抽出物について、200 を超える農薬を対象とするルーチン分析法を、APGC Xevo™ TQ-S micro で、両方のキャリアガスを使用して評価しました。サンプル前処理には、改正された QuEChERS メソッド (Quick (迅速)、Easy (簡単)、Cheap (安価)、Effective (効果的)、Rugged (頑健)、Safe (安全)) を使用しました。また、乳児用食品 (コテージパイ) の抽出物も、窒素をキャリアガスとして使用する農薬分析用に前処理しました。直径がより小さいカラムを使用し、分析法のガス流量のパラメーターをスケールアップするだけで、APGC を使用した場合に、いずれのガスでも同等の性能が得られることを実証しました。

アプリケーションのメリット

APGC で窒素キャリアガスに切り替えた場合に同等のクロマトグラフィー分離および性能が得られることで、ヘリウムのコストと不足に悩んでいるラボに、GC 実験における実行可能な代替法を導入することができます。

はじめに

ヘリウムは、ガスクロマトグラフィーで最もよく使用されているキャリアガスです¹。ヘリウムの使用は、従来のアプリケーションおよび装置設計に基づいたもので、現在のように使用に制限があったり、高価でなかった時点では、ヘリウムは好ましいキャリアガスと一般に見なされていました。ヘリウムは、天然ガス抽出の副生成物であり、特定のヘリウム生産地域では、政治が不安定でグローバルサプライチェーンに分断が生じています。ヘリウムは主にオイルおよびガスの生産プロセスの副生成物として供給されるため、これらの生産が変動すると、ヘリウムの利用可能性にも影響が及びます。ヘリウムは、磁気共鳴イメージング (MRI) 装置、半導体製造、超電導研究などの他のテクノロジーにも使用されており、その需要がさらに増加しています。さらに、これらの応用分野の一部（特に医療診断）は、クロマトグラフィーアプリケーションよりも優先されています。このような需要と供給のバランスの制限により、価格が上昇しています²。

農業分析に APGC-MS/MS を使用する利点については、以下を参照してください。

<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720007815en.pdf> <

<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720007815en.pdf>>

<https://www.waters.com/content/dam/waters/en/app-notes/2022/720007708/720007708-en.pdf> <

<https://www.waters.com/content/dam/waters/en/app-notes/2022/720007708/720007708-en.pdf>>

<https://www.waters.com/content/dam/waters/en/app-notes/2022/720007654/720007654-en.pdf> <

<https://www.waters.com/content/dam/waters/en/app-notes/2022/720007654/720007654-en.pdf>>

ヘリウム (He) は供給が不足しており、ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS) のキャリアガスとしてはコストの高い選択肢になっています。クロマトグラフィー分析において、ヘリウムが非常に高価であり、必要なときに必ずしも入手できない点が問題となっています。そこでクロマトグラフィー分析者の多くは、代替手段として、ヘリウムから水素への切り替えを検討しています。しかし、安全性、古い装置における反応性、ヘリウムと比較した場合の性能の低さ、移行プロセスにかかる時間の長さやコストに関する懸念事項が認識されています。これらの要素すべての組み合わせから、窒素の使用が有望視されています。窒素は、他のガスと比較して比較的安価な不活性再生可能ガスです。窒素は、MS 以外の検出器ですでに使用されていますが、真空のイオン源流量の要件により、MS ラボでは不安が感じられていました。APGC では、高真空は不要で、イオン化は窒素プラズマを誘起するピンの周囲で起きるため、窒素をキャ

リアガスとして使用しても悪影響はありません。APGC 手法のメカニズムは、電荷またはプロトンのトランスファーによる気相イオン分子反応です。残留農薬分析の場合、イオン源条件は、イオン化チャンバーにちょうど十分な水が存在するように調整されており、電荷またはプロトンのいずれかのトランスファーが起きやすい化合物に対して十分な感度が得られます。装置のセットアップは、適切な質の窒素ガスおよびろ過を使用して、非常に乾燥した状態になっています。次に、ソースエンクロージャー内に配置された保持トレイ内のバイアルに水を入れます。

この試験の目的は、性能を損なうことなく、APGC-MS/MS のキャリアガスを窒素に容易に切り替えられることを実証することです。

実験方法

サンプルの説明

キュウリと乳児用食品（コテージパイ）のサンプルに対して QuEChERS 抽出を行い、203 GC に適合する農薬（RESTEK 製品番号：32562）のブラケットキャリブレーション用に、アセトニトリル中にマトリックスを作製しました。いずれのマトリックスも、QuEChERS CEN メソッドの改正版を使用して抽出しました⁴。乳児用食品の場合、Oasis™ PRIME HLB カートリッジを通して固相抽出（SPE）クリーンアップも行いました。マトリックスマッチド標準試料を 0.00025 ~ 0.02 mg/kg の範囲で調製し、キャリアをヘリウムから窒素に複数回変更しながら APGC Xevo TQ-S micro システムを使用して分析を行いました。

分析条件

窒素キャリアへの切り替えのプロセスは、ガスの供給を切り替え、適切なフィルターを使用するだけで行え、標準的な窒素加圧シリンダーでも使用できます。窒素の最適な線速度（10 ~ 15 cm/秒）はヘリウム（25 ~ 35 cm/秒）と比較して小さいため、窒素キャリアにはより低いカラム流量を使用する必要があります。そのため、保持時間を同等にするには、GC 分析法を、ヘリウムでの分析で使用するカラムと相比が一致するより短いカラム向けに変換する必要があります。このような移行に役立つツールがオンラインで入手できます。この分析では、図 1 に示す例を使用しました。

EZGC Method Translator

Carrier Gas	Original	Translation
	Helium	Nitrogen

Column

Length	30.00	20.00	m
Inner Diameter	0.25	0.15	mm
Film Thickness	0.25	0.15	μm
Phase Ratio	250	250	

Control Parameters

Column Flow	2.00	0.50	mL/min
Average Velocity	43.63	28.65	cm/sec
Holdup Time	1.15	1.16	min
Inlet Pressure	23.62	26.26	psi
Outlet Pressure (abs)	14.70	14.70	psi

Oven Program

Isothermal
 Ramps

	Ramp Rate (°C/min)	Temp (°C)	Hold Time (min)	Ramp Rate (°C/min)	Temp (°C)	Hold Time (min)
Ramps (1-4)		90	1		90	1
1	8.5	330	5	8.3	330	5.1

Control Method

Constant Flow

Results

Solve for Efficiency Speed Translate Custom

Run Time	34.24	35.02	min
Speed		0.98	x

[Use Flow Calculator Values](#)

図 1. EZGC Method Translator⁵

ヘリウムのメソッドパラメーターを入力することで、トランスレーターは窒素メソッドの「ホールドアップ時間」の一致を試み、これが新しいメソッドの妥当な出発点になります。保持時間を正確に一致させるために、カラム流量に関して若干のメソッド開発作業が必要になる場合があります。初期のメソッド開発の後、早く溶出する一部の化合物向けに、窒素用メソッドにおけるオープン昇温で、溶媒に焦点を当てたステップを追加しました。

GC 条件

パラメーター	ヘリウム	窒素
カラム	RESTEK SVOCms 30m × 内径 0.25 mm × 0.25 μm	RESTEK SVOCms 20 m × 内径 0.15 mm × 0.15 μm
オープンプログラム	90 °C で1 分 8.5 °C/分で 330 °C まで昇温 5 分間ホールド	75 °C で 0.7 分 15.8 °C/分で 106.6 °C まで上昇 (ホールドなし) 8.3 °C/分で 330 °C まで昇温 5.1 分間ホールド
ガス流量 :	2 mL/分 (定流量モード)	0.38 mL/分 (定流量モード) - キュウリマトリックス 0.45 mL/分 (定流量モード) - 乳児用食品マトリックス
注入方法 :	パルススプリットレス	パルススプリットレス
インレット温度 :	250 °C	250 °C
パルス時間 :	1.2 分	1.2 分
パルス圧力 :	32 psi	50 psi
パージ流量 :	30 mL/分	30 mL/分
セプタムパージ流速 :	3 mL/分	3 mL/分
インレットライナー :	Restek Topaz 内径 4.0 mm シングルテーパーインレットライナー	Restek Topaz 内径 4.0 mm シングルテーパーインレットライナー
注入量 :	1 μL	1 μL
メイクアップガス :	窒素 350 mL/分	窒素 350 mL/分
トランスファーラインの温度 :	280 °C	280 °C

結果および考察

メソッドの変換

窒素の最適な線速度はヘリウムよりも小さいため、窒素メソッドにおいては、ガス流量がはるかに低くなり、カラム長を短くする必要があります。そうしないと、保持時間が2倍になる可能性があります。カラムの相比をヘリウム分析に使用するカラムの相比と一致させることで、クロマトグラフィー性能が確実に保たれます。

若干のメソッド開発とともにカラムサイズのスケールリングを行うことで、キャリアガス間で保持時間を一致させることができるため、キャリアガスの切り替えに関する移行は容易に行えました。これにより、いずれのキャリアガスについても、データ解析に使用するメソッドファイルの多くを同じ状態で維持することができました。窒素での分析において、従来「困難」であった化合物について同等のキャリアレーション係数が得られました。クリティカルペアの分離も同等でした。APGC Xevo TQ-S micro での分析において、いずれのキャリアガスを使用しても、EI ベースのシステムに対して優れた感度を得られ、ヘリウムと窒素のいずれをキャリアとして使用しても一貫した性能を示しました。

クロマトグラフィー性能

図2に、乳児用食品マトリックス中の早く溶出するピークの比較を示します。メソッドトランスレーターで算出されたパラメーターを使用すると、±0.2分の範囲内にピークが見られることがわかりました。これは同じ解析ファイルを使

用できることを意味します。

図3に、キュウリマトリックス中の遅く溶出するピークを示します。カラム流量に関してメソッド開発と実験に時間がかかったものの、保持時間が完全に一致していました。これにより、いずれのマトリックスでもそれぞれのキャリアガスで同じ解析メソッドを使用することができました。

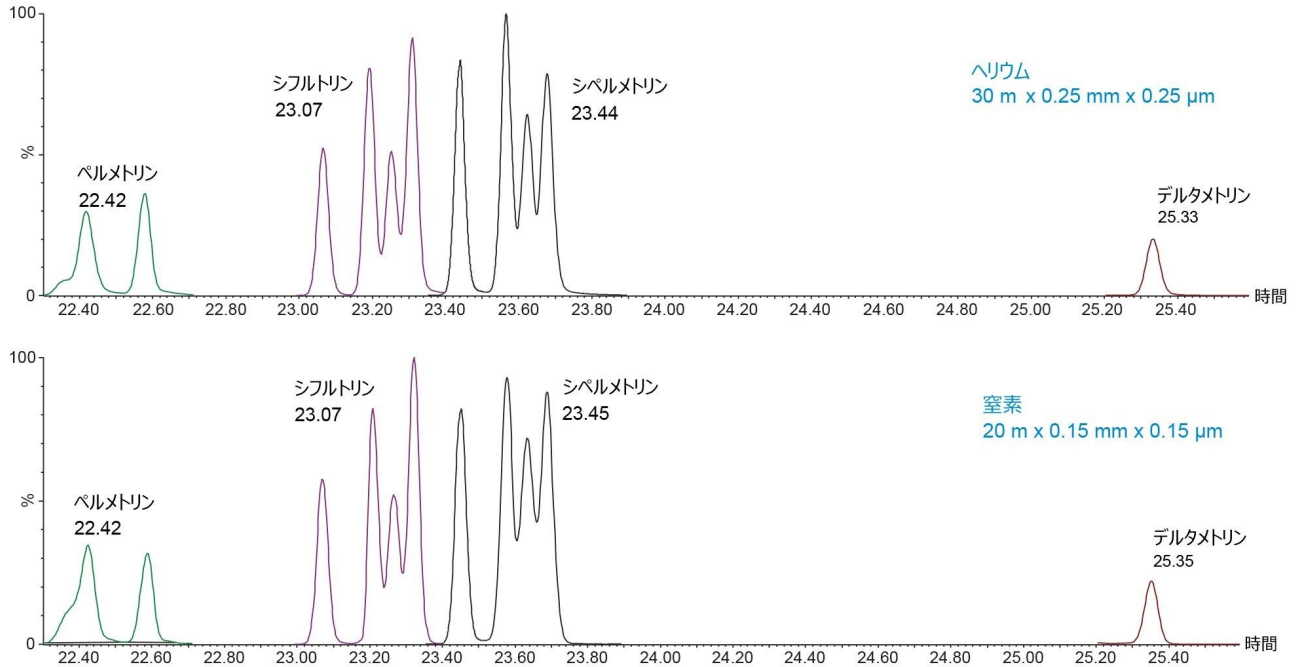


図3. キュウリ中の遅く溶出する化合物

図4に、クリティカルペアであるプロフルラリン（赤色）とテルブチラジン（紫）のクロマトグラムを示しています。ここでは、窒素キャリアの方が優れた分離を示しています。これは、窒素の線速度が小さく、それぞれの分析種がカラムの固定相と相互作用する時間が若干長いことに起因する可能性があります。

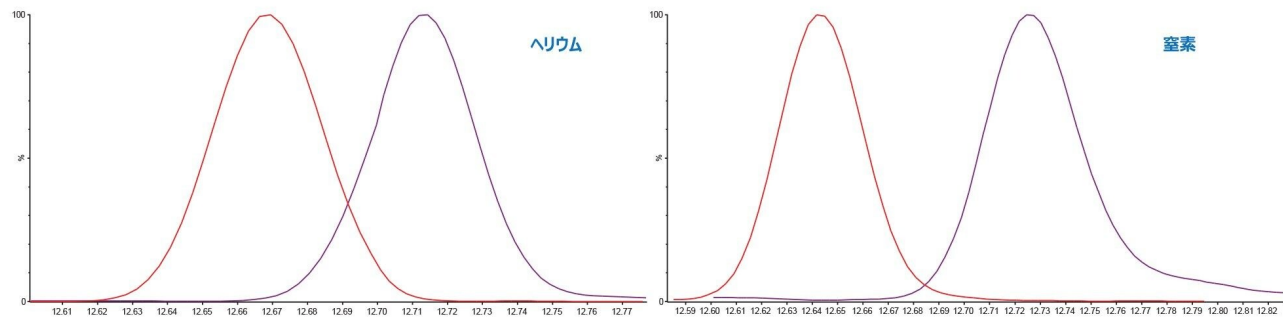


図 4. ヘリウム（左）および窒素（右）でのクリティカルペアの分離

併行精度

この分析で使用した 6 種類の内部標準はそれぞれ、各マトリックスの 12 回の注入にわたる残差が 10% 未満でした。図 5 は、内部標準の複数回の注入にわたるヘリウム（左）と窒素（右）での比較を示しており、すべての注入の残差プロットが誤差範囲 10% 以内に収まっていることがわかります。

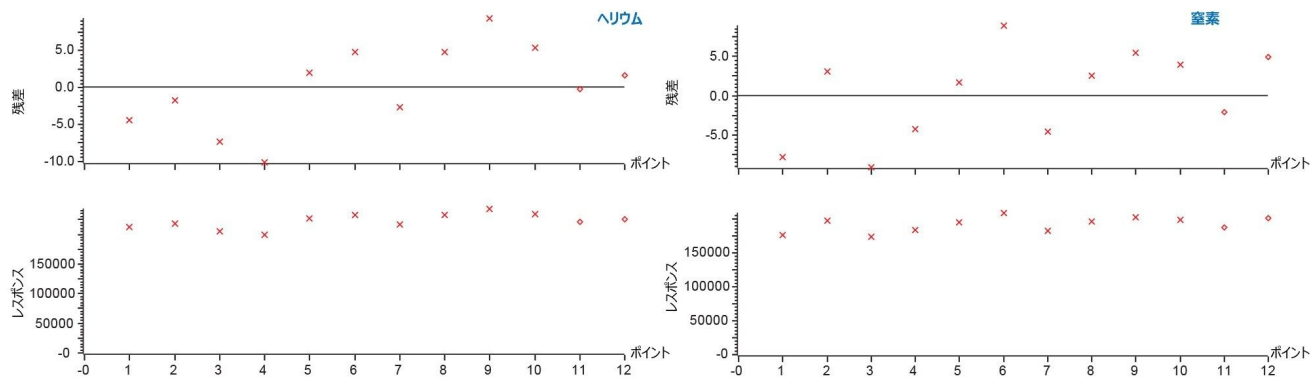


図 5. ヘリウム（左）および窒素（右）での内部標準の繰り返し注入

感度特性およびキャリブレーション特性

図 6 に示すグラフは、乳児用食品中の 0.01 mg/kg の標準試料について得られた、窒素でのレスポンスに対するヘリウムでのレスポンスの比を示しています。約 59% の分析種で比が 0.5 ~ 1.5 であることから、この結果は 2 種類のキャリアガスでの感度が同等であることを示しています。分析種の 85% では、この比が 2 未満でした。

以下は、すべて窒素キャリアを用いて分析し、最大残留レベル（MRL）0.01 mg/kg で検出された、従来「困難」であった化合物のリストです。また、各キャリアガスでのシベルメトリンとキャプタンに対する感度の比較も示しています。すべてが20% 以内の残差プロットを示しており、SANTE ガイドラインおよび R^2 係数 >0.99 を満たしています。

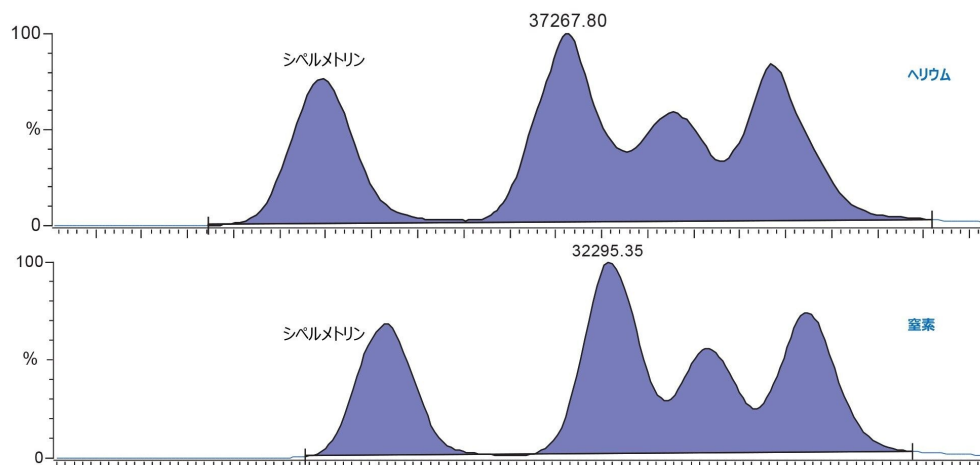


図 7. 乳児用食品中のシベルメトリン (0.01 mg/kg) のクロマトグラムの比較

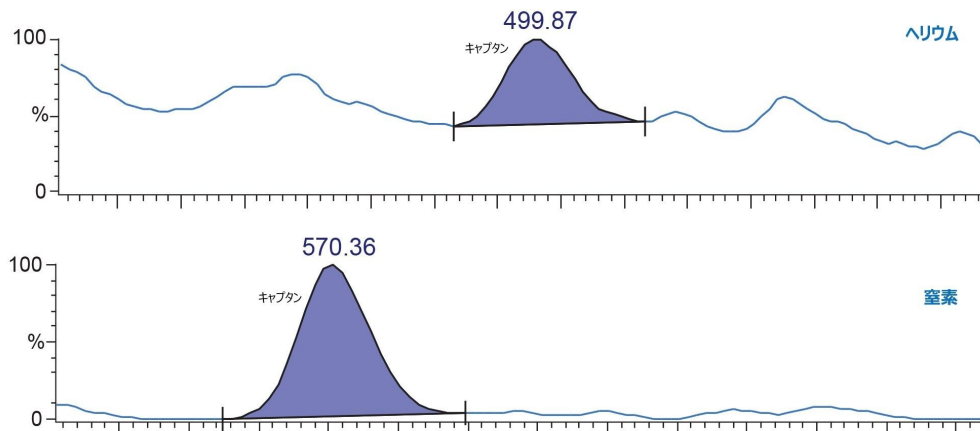


図 8. 乳児用食品中のキャプタン (0.01 mg/kg) のクロマトグラムの比較

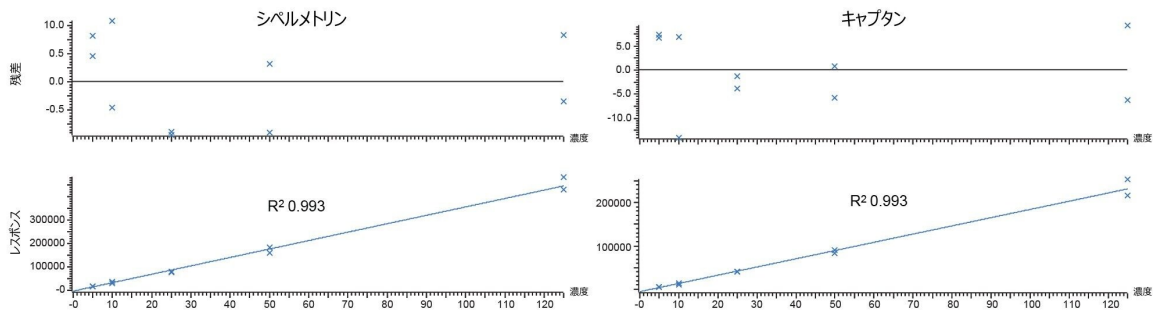


図9. 乳児用食品中の残留シベルメトリンおよびキャプタンのブラケットキャリブレーショングラフ

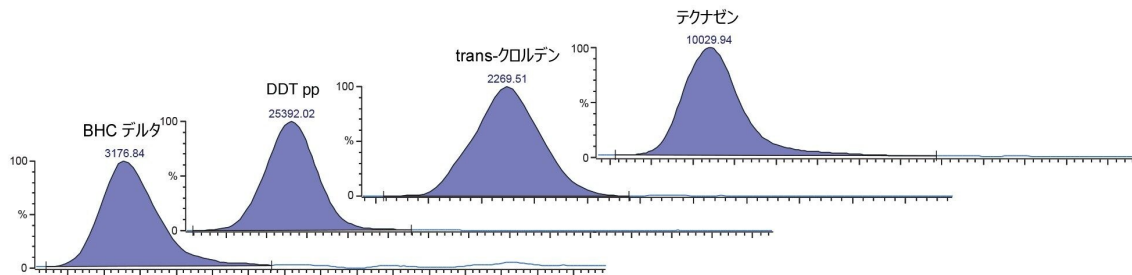


図10. 乳児用食品中の一部の残留農薬 (0.01 mg/kg) のクロマトグラム

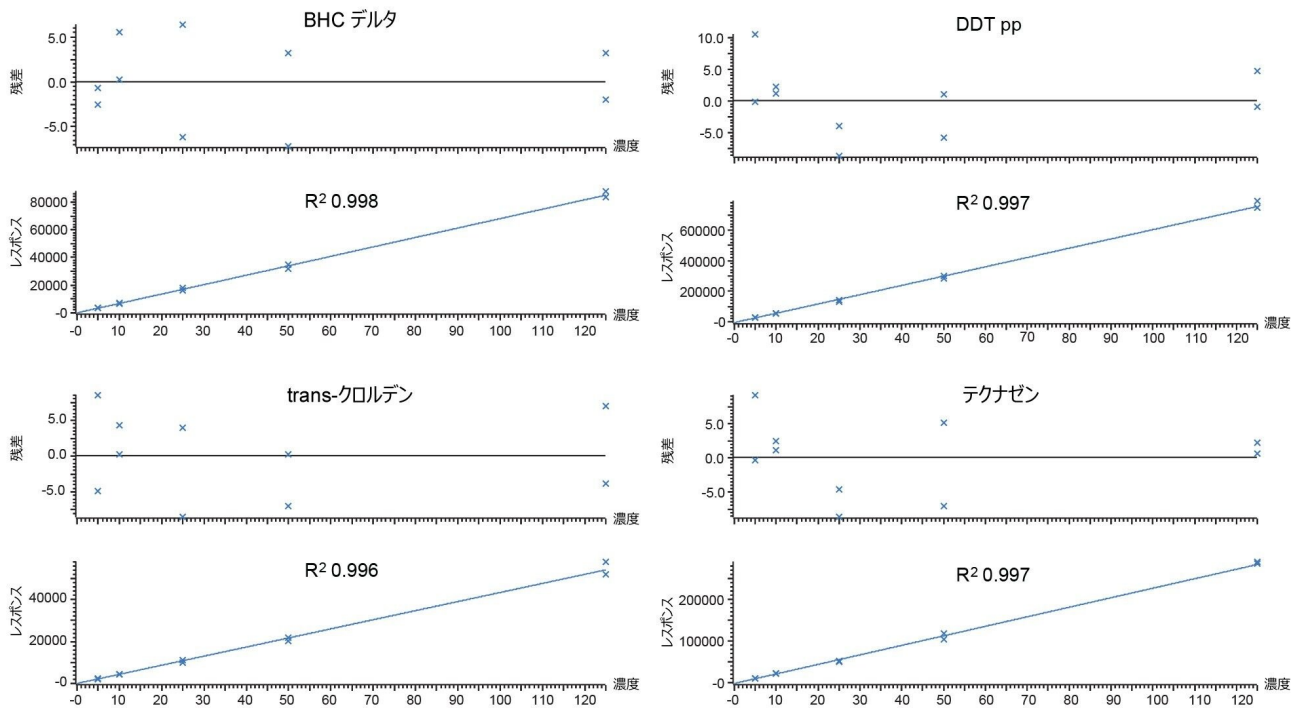


図 11. 乳児用食品中の一部の残留農薬のブラケットキャリブレーショングラフ

結論

このアプリケーションノートでは、残留農薬を測定するための既存の GC 分析法で使用するキャリアガスをヘリウムから窒素に容易に変換できることについて説明しています。APGC システムは、イオン源に真空が必要という制約を受けないため、性能を損なうことなく、窒素をキャリアガスとして使用するよう切り替えることができ、バルブを回すだけでヘリウムに戻すことができます。カラムサイズをスケールし、パラメーターを調整した後も、分離と分析時間はほとんど同じであり、感度にも影響がありませんでした。窒素をキャリアガスとして使用する APGC が、食品中の残留農薬の測定において信頼性が高いことが示されたことから、キャリアガスのコストを大幅に節約することができ、供給の問題もなくなりました。

参考文献

1. <https://www.peakscientific.com/discover/news/how-is-helium-gas-obtained/> <
<https://www.peakscientific.com/discover/news/how-is-helium-gas-obtained/>> .
2. <https://www.innovationnewsnetwork.com/helium-shortage-4-0-what-caused-it-and-when-will-it-end/29255/> <<https://www.innovationnewsnetwork.com/helium-shortage-4-0-what-caused-it-and-when-will-it-end/29255/>> .
3. European Committee for Standardisation (CEN) EN 15662:2018. Foods of Plant Origin - Multimethod for the Determination of Pesticide Residues Using GC- and LC- Based Analysis Following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive Spe - Modular Quechers-Method.
4. <https://ez.restek.com/ezgc-mtfc> <<https://ez.restek.com/ezgc-mtfc>> .

ソリューション提供製品

Waters 大気圧ガスクロマトグラフィー (APGC) <<https://www.waters.com/10100362>>

Xevo TQ-S micro タンデム四重極質量分析計 <<https://www.waters.com/134798856>>

MassLynx MS ソフトウェア <<https://www.waters.com/513662>>

TargetLynx <<https://www.waters.com/513791>>

720008044JA、2023 年 9 月



© 2024 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[利用規約](#) [プライバシー](#) [商標](#) [キャリア](#) [クッキー](#) [クッキー環境設定](#)