

Agilent 8697 ヘッドスペースサンプラと GC/MS/MS を用いた穀物とスパイス中の リン化水素（ホスフィン）残留物の定量

Agilent 8890/7010C トリプル四重極 GC/MS システム



著者

Praveen Arya and
Vivek Dhyani
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、Agilent 8890 GC システムを Agilent 8697 ヘッドスペースサンプラおよび Agilent 7010 GC/TQ と組み合わせて使用し、米および赤唐辛子粉末中のリン化水素（ホスフィン）残留物を検出および定量することができることを示します。サンプルをヘッドスペースバイアルに入れ、Milli-Q 水を加えました。バイアルにキャップをしてヘッドスペースサンプラに導入し、GC/MS/MS 分析を行いました。米および赤唐辛子粉末のマトリックスにおいて 5 ng/g の定量下限を達成しました。さまざまな回収実験における平均回収率は 80 ~ 110 % でした。

はじめに

燻蒸剤とは貯蔵食品中の害虫を駆除するために使用するガスです。¹ 穀物は主にリン化水素（一般にホスフィンと呼ばれます）によって消毒され、リン化亜鉛やリン化アルミニウムなどの安定塩から遊離されます。¹ ホスフィンは無色のガスであり、その迅速な拡散性と極めて高い揮発性のため、燻蒸剤として世界中で使用されています。¹ このような望ましい特性がありますが、微量のホスフィンが処理後数か月間食品中に残留し、深刻な健康問題を引き起こすおそれがあります。¹

ホスフィン揮発性が高いため、食品中の農薬残留分析に一般的に用いられる多成分残留分析メソッドをそのまま適用することができません。そのため、特別な単一残留メソッドを適用する必要があります。² 従来、クロマトグラフィーによる分離の前にホスフィンを予備濃縮するために、Tenax 充填インレットライナーとクライオフォーカスの使用により予備濃縮するホスフィン分析メソッドが開発されてきました。これらのメソッドでは、液体窒素を用いる大規模な分析装置構成が必要とされます。EU の法律では、食品中のホスフィンの最大残留基準値は、商品の種類によりますが、0.01 ~ 0.1 mg/kg の範囲となっています。（委員会規則（EC）No. 149/2008）。²

このアプリケーションノートで採用したメソッドでは、7010 GC/TQ と組み合わせた 8890 GC システムへのサンプル導入に 8697 ヘッドスペースサンブラを使用した例について紹介します。

カラム構成

PLOT カラム固定相から離脱した単一粒子が質量検出器（MSD）のイオン源に入るのを防ぐために、パージ付き Ultimate ユニオンを使用して、PLOT カラムと MSD の間に不活性フューズドシリカキャピラリー（1 m × 0.15 mm）を挿入しました。この構成は、質量分析計をベントせずにカラムを交換する場合にも役立ちます。

表 1. ヘッドスペース GC/TQ パラメータ

パラメータ	値
ヘッドスペースメソッドのパラメータ	
インキュベーション温度	60 °C
インキュベーション時間	15 分
ループ温度	70 °C
トランスファーライン温度	80 °C
GC サイクル時間	26 分
GC/MS/MS メソッドパラメータ	
注入口温度	150 °C
分析カラム	Agilent HP-PLOT Q (部品番号 19091P-Q04)
ポストカラム	不活性フューズドシリカキャピラリー (1 m × 0.15 mm)
PSD 1 圧力	1 psi
カラム流量	ヘリウム: 1.2 mL/min、定流量
注入モード	スプリット (20:1)
オープンプログラム	50 °C で開始 (1 分間保持)、4 °C /min で 70 °C まで昇温、その後 50 °C /min で 260 °C まで、10 分間保持
MS パラメータ	
イオン化モード	EI
イオン源温度	230 °C
四重極温度 (Q1 および Q2)	150 °C
SIM モードイオン	
定量イオン	34
確認イオン 1	33
確認イオン 2	31

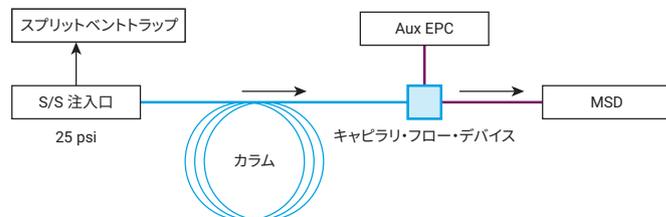


図 1. ポストカラムバックフラッシュを備えたカラム構成の概略図

実験方法

標準溶液の前処理

リン化水素標準溶液 (0.2 µg/mL) は、1 L の蒸留水に 4 mg のリン化亜鉛 (Zn₃P₂ - 純度 19 %) 粉末を懸濁して調製しました。この混合物を手で振った後、懸濁液を超音波浴槽で 15 分間処理しました。

リン化亜鉛は水と反応してホスフィンと水酸化亜鉛を生成します：



原液中のホスフィン濃度 (µg/mL) =

$$\frac{\text{Zn}_3\text{P}_2 \text{ の重量 (mg)} \times \text{PH}_3 \text{ のモル重量} \times \text{モル数} \times \text{純度} \times 1,000}{\text{Zn}_3\text{P}_2 \text{ のモル重量} \times \text{最終体積 (mL)} \times 100} \\ = \frac{4 \times 34 \times 2 \times 19 \times 1,000}{258 \times 1,000 \times 100} = 0.2 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

20 mL ヘッドスペースバイアルに採取した米と赤唐辛子粉末のブランクマトリックス 0.5 g にホスフィン原液 (表 2 を参照) を加えることにより、6 つのマトリックス検量線を調製しました。各濃度の標準液は 5 ミリリットルの Milli-Q 水を追加して直ちにキャップをしたもので、これをヘッドスペース GC/MS システムで分析しました。

表 2. プレスパイクしたマトリックス検量線の調製

キャリブレーションレベル	原液量 (µL)	ブランクマトリックス (g)	Milli-Q 水量 (mL)	プレスパイク濃度 (ng/g)
L1	12.5	0.5	5	5
L2	25	0.5	5	10
L3	50	0.5	5	20
L4	125	0.5	5	50
L5	250	0.5	5	100
L6	500	0.5	5	200

サンプル前処理

各サンプルについて、20 mL ヘッドスペースバイアル中に 約 0.5 ±0.01 g を計量しました。5 ミリリットルの Milli-Q 水を追加し直ちにバイアルをキャップして、ヘッドスペース GC/MS システムで分析しました。

結果と考察

キャリブレーション

図 2 と 3 は、それぞれ米と赤唐辛子粉末中のホスフィンの直線性を示しています。得られた R² は 0.998 を超えました。

再現性

米と赤唐辛子粉末にホスフィン 20 ppb の濃度に添加した溶液を繰り返し注入することで、再現性のある分析結果が得られました。表 3 に示すように、ホスフィンの %RSD データは、米と赤唐辛子粉末中の 20 ppb マトリックススパイク標準の 4 回の繰り返し分析によるピーク面積から計算しました。

回収率

米と赤唐辛子粉末のサンプルに、それぞれ 10 ng/g と 20 ng/g の濃度でホスフィンを添加しました。プレスパイクしたマトリックス検量線による定量により、許容できる回収率が得られました。結果を表 4 に示します。

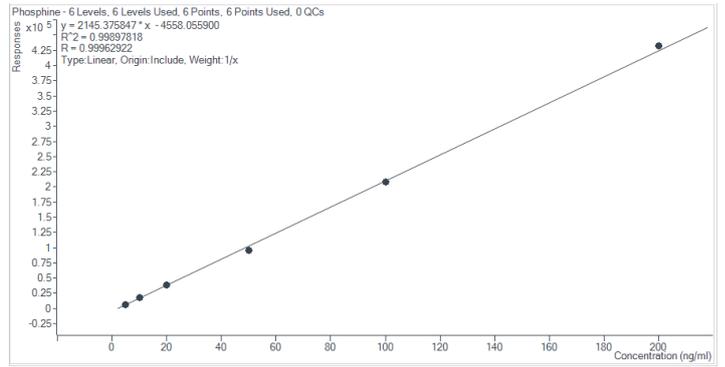
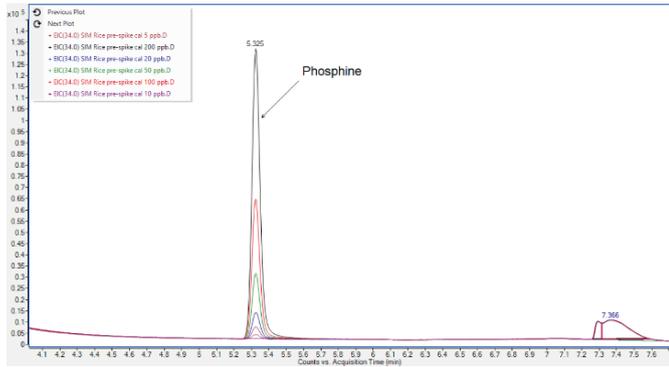


図 2. 米中の 5 ~ 200 ng/g の標準液の重ね書きクロマトグラムとマトリックス検量線

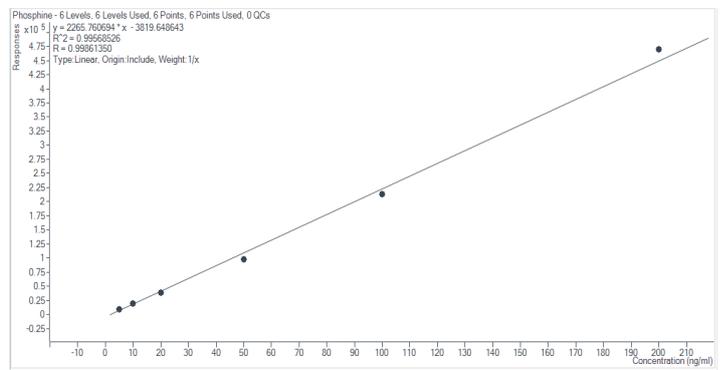
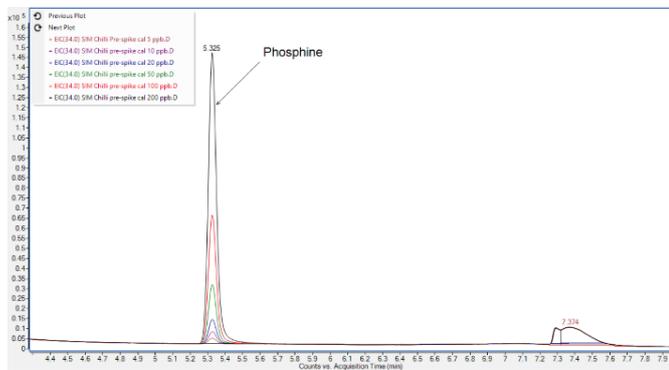


図 3. 赤唐辛子粉末中の 5 ~ 200 ng/g の標準液の重ね書きクロマトグラムとマトリックス検量線

マトリクス標準における定量ピークと確認ピーク

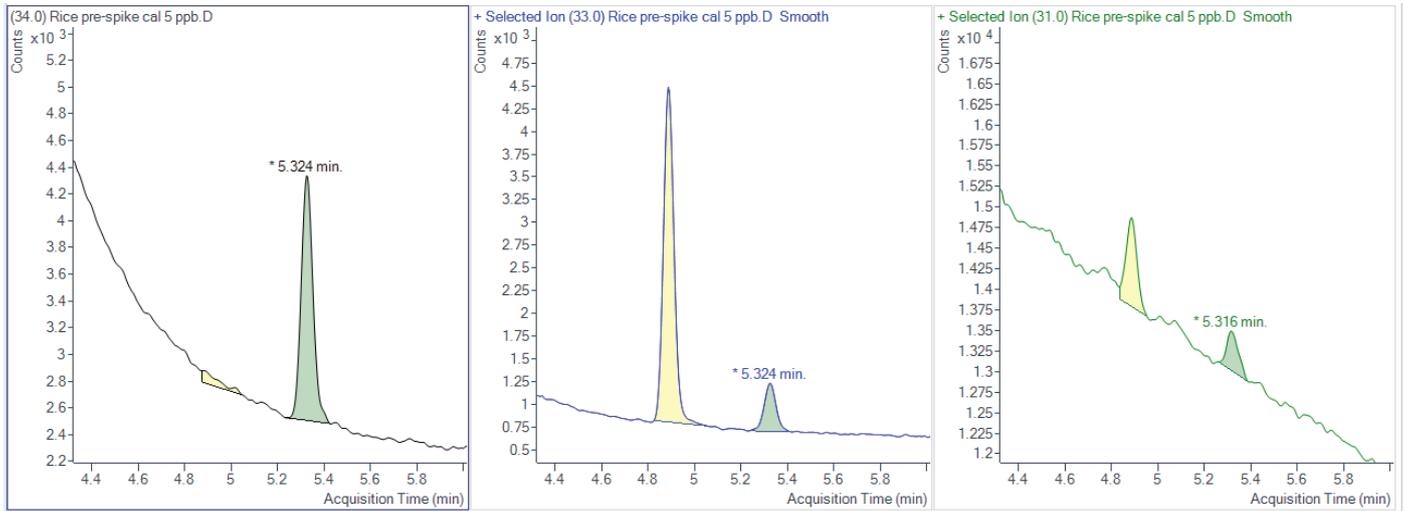


図 4. 米中の 5 ppb プレスパイクマトリクス標準における定量ピークと確認ピーク

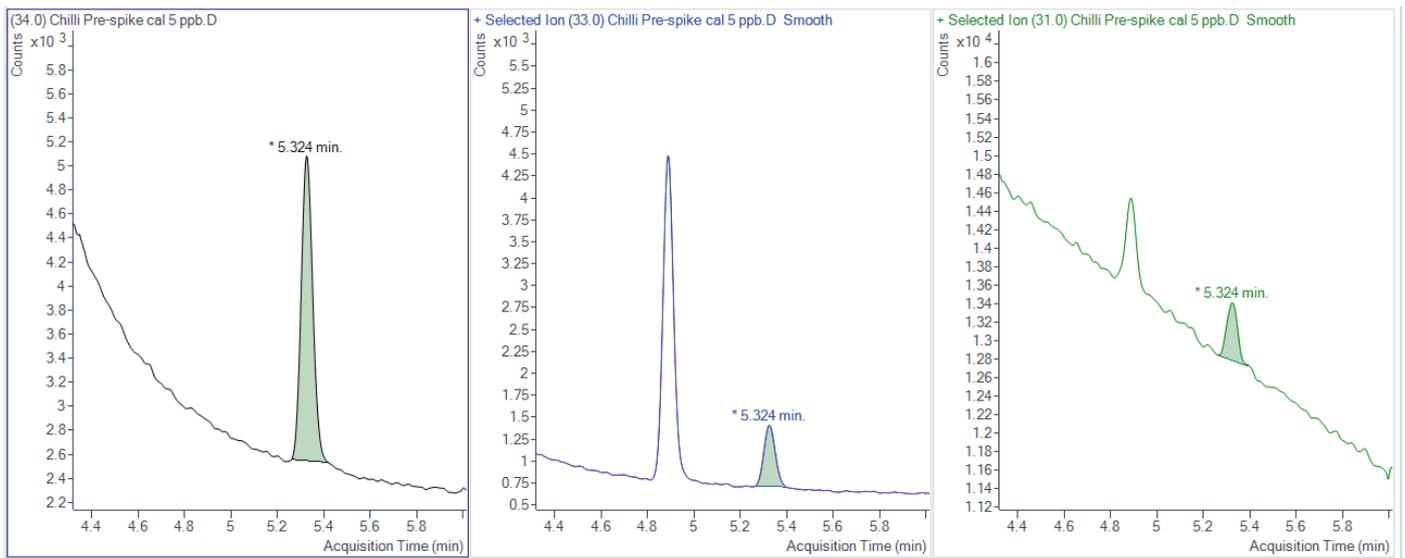


図 5. 赤唐辛子粉末中の 5 ppb プレスパイクマトリクス標準における定量ピークと確認ピーク

表 3. 米と赤唐辛子粉末に 20 ppb をプレスバイクしたマトリックス標準の 4 回の繰り返し測定における %RSD

繰り返し回数	米		赤唐辛子粉末	
	保持時間 (分)	面積値	保持時間 (分)	面積値
20 ppb マトリックス標準 繰り返し分析 1	5.329	32,063	5.329	35,302
20 ppb マトリックス標準 繰り返し分析 2	5.324	31,285	5.329	38,722
20 ppb マトリックス標準 繰り返し分析 3	5.325	36,476	5.325	38,326
20 ppb マトリックス標準 繰り返し分析 4	5.324	33,056	5.324	33,704
平均値	5.326	33,220.000	5.327	36,513.500
SD	0.002	2,288.472	0.003	2,416.861
%RSD	0.045	6.889	0.049	6.619

表 4. 10 ng/g レベルで添加された米と赤唐辛子粉末中のホスフィンの回収率

食品マトリックス	ホスフィン		
	添加濃度 (ng/g)	得られた濃度の平均 (ng/g)	回収率 (%)
米	10	10.23	102.3
赤唐辛子粉末	10	10.48	104.8

結論

食品中のホスフィンの最大残留基準値に関する欧州リファレンス・ラボラトリー (EURL) の要件を満たす正確で堅牢な分析メソッドが開発されました。米および赤唐辛子粉末中のホスフィンの分析については、この基準値は商品に応じて 0.01 ~ 0.1 mg/kg の範囲となります (欧州委員会規則 (EC) No 149/2008)。このメソッドの LOQ が、試験を行ったすべてのマトリックスに対して 5 ng/g となることが実証されました。20 ng/g 濃度レベルでのマトリックス標準の 4 回の繰り返し分析で、再現性のある結果が得られました。試験を行ったすべてのマトリックスにおいて、10 ng/g の添加濃度レベルで優れた回収率が得られました。以上から本検討を通じて、微量レベルのホスフィンを対象に、食品サンプルのルーチン分析を行うために開発された本メソッドの有用性が実証されました。

参考文献

1. Wittayanan, W.; Jongmevasna, W.; Kaewklapanacharoen, L.; Atisook, K. Method Development and Validation of Hydrogen Phosphide and Inorganic Bromide Determined as Fumigant Residues in Commercialized Rice Grains in Thailand. *Int. Food Res. J.* **2017**, *24*(3).
2. Perz, R.; Benkenstein, A.; Köbler, H.; Scherbaum, E.; Köhl, D.; Barth, A.; Anastassiades, M. Analysis of Phosphine in Dried Foodstuffs via Headspace-GC-MSD. *Aspects of Food Control and Animal Health* **2014**, (2).

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE-001666

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2024

Printed in Japan, October 14, 2024

5994-7859JAJP