

短報

高速液体クロマトグラフィー/ タンデム型質量分析計による 農産物中の残留農薬一斉試験法の検討

林 孝子, 藤巻照久, 伊藤伸一*

Analysis of pesticide residues in agricultural products by liquid chromatography with tandem mass spectrometry

Takako HAYASHI, Teruhisa FUJIMAKI,
Shin-Ichi ITOH

キーワード：LC-MS-MS, 残留農薬, 一斉試験法,
ポジティブリスト

はじめに

平成 (H) 18年5月29日, 我が国の食品衛生法の大幅な改正のもと, ポジティブリスト制度が施行された。これに伴い加工食品を含む全ての食品に残留する農薬, 飼料添加物および動物用医薬品に規制がかかり, 原則として全ての農薬に一律基準, 暫定基準等の基準が適用されるようになった¹⁾。ポジティブリスト制度の導入により対象農薬は大幅に拡がり, これに対処するため液体クロマトグラフ-質量分析計 (LC-MS, LC-MS-MS) やガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS) による一斉試験法が, 厚生労働省の「残留農薬分析法検討会」(食品中に残留する農薬等のポジティブリスト制に係る分析法の検討) を経て, まず7試験法がH17年11月29日に通知され, H19年に1試験法が追加された²⁾。

我々は食品中の残留農薬の行政検査を実施するため, 国に先行して独自のガイドラインを設け, 通知されている一斉試験法について農薬と対象作物との組み合わせでバリデーションを行い検査実施標準作業書 (SOP) を作成している。

Kanagawa Prefectural Institute of Public Health, 1-3-1,
Shimomachiya, Chigasaki 253-0087

神奈川県衛生研究所 理化学部
〒253-0087 茅ヶ崎市下町屋1-3-1

*現 地域調査部

今回, 「LC/MSによる農薬等の一斉試験法I (農産物)」²⁾ について, 神奈川県内で市販されている農作物を用いて55農薬のバリデーションを行ったので報告する。

方法

1. 試料

試料は神奈川県内で流通, 販売している農作物としてりんご, オレンジ, キャベツ, じゃがいも (ばれいしょ), ほうれんそう, きゅうり, ピーマン, トマト, いちご, だいこんを用いた。

2. 試薬

標準品は関東化学 (株), 林純薬工業 (株), 和光純薬工業 (株) より入手した残留農薬試験用標準品を用いた。

標準溶液は各農薬標準品20mgを精秤し, アセトニトリルに溶解して1,000 μ g/mlとしたものを標準原液とした。これらの標準原液を混合しアセトニトリルで10 μ g/mlとなるように混合標準溶液を調製した。混合標準溶液はメタノールで適宜希釈し各濃度の標準溶液とした。

有機溶媒, 無水硫酸ナトリウムは残留農薬分析用を, 移動相用メタノールはLC-MS用を用いた。その他の試薬は特級を用いた。

固相抽出用ミニカラムはスperlコ社製ENVI-Carb/LC-NH2 (500mg/500mg) を用いた。予め25%トルエン-アセトニトリル10mlでコンディショニングを行い, 実験に用いた。

3. 装置

高速液体クロマトグラフ: Agilent Technologies社製1100シリーズ

質量分析装置: Applied Biosystems社製API3000

4. HPLC条件

分析カラム: Waters社製XTerra MS C18 (粒子径3.5 μ m, 内径2.1mm, 長さ150mm)

カラム温度: 40°C

移動相: A液 5mmol/l酢酸アンモニウム水溶液, B液 5mmol/l酢酸アンモニウムメタノール

グラジエント条件: 0分 (A : B = 85 : 15) → 1分 ~ 3.5分 (60 : 40) → 6分 (50 : 50) → 8分 (45 : 55) → 17.5分 ~ 30分 (5 : 95) の直線グラジエント

流速: 0.2ml/min

注入量: 5 μ l

5. MRM (Multiple Reaction Monitoring) 測定条件

イオン化法: ESI, ポジティブモード, 測定モード: MRM, イオンスプレー電圧: 5000V, イオン源温度: 500°C, 農薬ごとのその他の測定条件は表1に示した。

表1 各農薬のLC-MS-MS測定条件

(H18年度検討27農薬)							(H19年度検討28農薬)										
No.	農薬名	相対保持時間	定量イオン			確認イオン			No.	農薬名	相対保持時間	定量イオン			確認イオン		
			MRM trace (m/z)	DP (V)	CE (V)	MRM trace (m/z)	DP (V)	CE (V)				MRM trace (m/z)	DP (V)	CE (V)	MRM trace (m/z)	DP (V)	CE (V)
1	アザフェニジン	1.01	338 → 264	46	43	338 → 112	46	77	1	イミダクロプリド	0.57	256 → 209	36	21	256 → 175	36	25
2	アシベンゾラルSメチル	1.10	211 → 136	36	39	211 → 69	36	83	2	インドキサカルブ	1.25	528 → 150	51	33	528 → 203	51	53
3	アゾキシストロピン	1.07	404 → 372	31	19	404 → 344	31	35	3	カルプロバミド	1.21	334 → 139	31	27	334 → 103	31	59
4	アラマイト	1.30	352 → 191	21	19	352 → 57	21	47	4	クロマフェノジド	1.14	395 → 175	26	19	395 → 339	26	11
5	アルジカルブ	0.77	208 → 116	6	11	208 → 89	6	23	5	シアゾファミド	1.16	325 → 108	31	19	325 → 261	31	15
6	アルドキシカルブ	0.42	240 → 86	16	29	240 → 76	16	19	6	シフルフェナミド	1.23	413 → 295	36	21	413 → 241	36	31
7	イプロジオン	1.17	330 → 245	51	23	330 → 288	51	17	7	シメコナゾール	1.15	294 → 70	31	39	294 → 135	31	31
8	イマザリル	1.20	297 → 159	41	29	297 → 255	41	25	8	チアクロプリド	0.69	253 → 126	46	29	253 → 90	46	55
9	エボキシコナゾール	1.15	330 → 121	26	29	330 → 101	26	69	9	チアメトキサム	0.48	292 → 211	31	17	292 → 181	31	31
10	オキサミル	0.44	237 → 72	11	29	237 → 90	11	13	10	テブフェノジド	1.18	353 → 133	11	25	353 → 297	11	11
11	カルバリル	0.92	202 → 145	21	15	202 → 127	21	39	11	テフルベンズロン	1.32	381 → 141	26	21	381 → 141	26	51
12	カルボフラン	0.88	222 → 165	26	17	222 → 123	26	29	12	ノバルロン	1.27	493 → 158	51	27	493 → 141	51	63
13	キザロホップエチル	1.28	373 → 299	56	25	373 → 271	56	35	13-1	フェンピロキシメートE	1.38	422 → 366	36	23	422 → 215	36	37
14	クレトジム	0.96, 1.05	360 → 164	26	29	360 → 166	26	37	13-2	フェンピロキシメートZ	1.32	422 → 366	26	19	422 → 215	26	35
15	クロフェンテジン	1.24	303 → 138	31	23	303 → 102	31	53	14	フルフェノクスロン	1.35	489 → 158	56	27	489 → 141	56	63
16	クロフルアズロン	1.38	540 → 383	51	31	540 → 158	51	31	15	ヘキシチアゾクス	1.34	353 → 228	31	21	353 → 168	31	35
17	クロロクスロン	1.13	291 → 72	41	49	291 → 164	41	25	16	ベンシクロン	1.24	329 → 125	31	35	329 → 89	31	89
18	ジウロン	1.01	233 → 72	36	37	233 → 160	36	37	17	ボスカリド	1.09	343 → 307	31	27	343 → 140	31	29
19	シクロエート	1.26	216 → 154	21	17	216 → 83	21	23	18	メトキシフェノジド	1.12	369 → 313	21	11	369 → 149	21	23
20	シクロプロトリン	1.36	499 → 181	26	47	499 → 229	26	31	19	ルフェスロン	1.32	511 → 158	56	29	511 → 141	56	67
21	ジノテフラン	0.36	203 → 129	21	17	203 → 157	21	13	20	アジンホスメチル	1.04	318 → 160	16	11	318 → 132	16	21
22	ジフルベンズロン	1.17	311 → 158	31	21	311 → 141	31	43	21	オキサジクロメホス	1.28	376 → 190	31	21	376 → 161	31	39
23	シプロジニル	1.21	226 → 93	36	47	226 → 77	36	61	22	テトラクロルピリンホス	1.18	367 → 127	36	21	367 → 206	36	49
24	ジメモルフ	1.08, 1.10	388 → 301	26	29	388 → 165	26	45	23	ピリミカルブ	0.96	239 → 72	31	33	239 → 182	31	23
25	シラフルオフェン	1.66	426 → 287	16	13	426 → 168	16	47	24	フェンアミドン	1.08	312 → 236	31	21	312 → 92	31	35
26-1	スピノシンA	1.45	733 → 142	51	41	733 → 98	51	95	25	フェンメディファム	1.03	301 → 168	31	13	301 → 136	31	29
26-2	スピノシンD	1.50	747 → 142	51	41	747 → 98	51	99	26	フタフェナシル	1.14	492 → 331	26	35	492 → 349	26	21
27	イソキサフルトール	1.00	360 → 251	41	19	360 → 220	41	53	27	ペンダイオカルブ	0.86	224 → 167	26	13	224 → 109	26	25
28	イソキサフルトール	1.00	360 → 251	46	21	360 → 220	46	53	28	イソキサフルトール	1.00	360 → 251	46	21	360 → 220	46	53

相対保持時間:イソキサフルトール(保持時間15-18分)を1とした相対値
 MRM Trace:MRM測定時の選択イオン プレカーサイオン→プロダクトイオン
 DP:デクラスターリング ポテンシャル(Declustering Potential)
 CE:コリジョン エネルギー(Collision Energy)

6. 試験溶液の調製

試験溶液の調製は通知法「LC/MSによる農薬等の一斉試験法I(農産物)」²⁾に準じて行った。

結果および考察

1. MRM測定条件の検討

MRM測定条件の検討は、対象農薬の各標準溶液を直接MSに導入するインフュージョン測定によりイオン化条件、解離条件、測定質量数等の最適化を行い、プロダクトイオンが高感度で得られる条件を求めた。H18年度は27農薬について厚生労働省「残留農薬分析法検討会」の担当として対象項目のモニターイオン、保持時間指標、定量限界の検討を行った³⁾。我々は0.1 μg/gの高濃度添加回収試験に併せて独自に0.01 μg/gの低濃度添加回収試験を追加して検討を行った。H19年度は通知法で示されている検査可能項目等を参考に27農薬を選び、相対保持時間指標農薬のイソキサフルトールとともに検討を行った。

プレカーサイオン1個から相対的に最も高感度で得られたプロダクトイオンを定量イオン、次に感度の高いプロダクトイオンを確認イオンとした。イオン化はESIとしたところ、全ての検討農薬がポジティブモードで分析可能であった。

MRM分析による検量線は、定量イオンを用いて0.005 μg/ml~0.15 μg/mlの範囲で絶対検量線を作成した。イプロジオンが相関係数(r)=0.95となったが、その他の農薬はr=0.98~1.00を示し良好な直線性が得られた。

2. バリデーション結果

当所で作成したガイドライン⁴⁾に則してバリデーションを実施した。結果を表2に示した。

定量限界は0.01 μg/ml混合標準溶液を3回以上測定して得られた標準偏差の5倍値とした⁵⁾。イプロジオンの定量限界が0.023 μg/ml、シクロプロトリンの定量限界が0.015 μg/mlとなったが、その他の農薬については0.0003~0.0084 μg/mlとなり、一律基準値である0.01 μg/mlを十分に担保できる値となった。

添加回収試験は2濃度(低濃度、高濃度)で実施した。低濃度(L)は検体濃度で一律基準値の0.01 μg/g相当、高濃度(H)は0.1 μg/g相当を添加した。真度(回収率)および精度(相対標準偏差)はCodex委員会「残留動物薬のガイドライン」⁶⁾を参考に、低濃度は回収率60~120%、相対標準偏差(RSD)25%以内、高濃度は回収率70~110%、RSD15%以内を適用可能とした。なお、精度試験の繰り返し検査数(n)はH18年度n=4、H19年度n=5で行った。クレトジムは検討した5作物全てで

表2 バリデーション結果および総合評価

No.	農薬名	LC/MS/MS Trace (m/z)	リンゴ						オレンジ						キヤベツ						ほれいしょ						ほうれんそう									
			H		L		H		L		H		L		H		L		H		L		H		L		H									
			真度 (回収率)	精度 (標準偏差)	真度 (回収率)	精度 (標準偏差)	真度 (回収率)	精度 (標準偏差)	真度 (回収率)	精度 (標準偏差)	真度 (回収率)	精度 (標準偏差)	真度 (回収率)	精度 (標準偏差)	真度 (回収率)	精度 (標準偏差)	真度 (回収率)	精度 (標準偏差)	真度 (回収率)	精度 (標準偏差)	真度 (回収率)	精度 (標準偏差)	真度 (回収率)	精度 (標準偏差)	真度 (回収率)	精度 (標準偏差)	真度 (回収率)	精度 (標準偏差)	真度 (回収率)	精度 (標準偏差)						
1	アザラジエニシ	338→264	81.7	2.4	82.3	3.6	83.0	7.5	87.6	3.7	83.4	6.1	86.4	7.7	68.5	5.8	87.6	4.6	82.8	6.0	89.5	2.8	82.8	6.4	82.8	12	81.4	3.8	82.8	12	75.6	6.4	70.8	14.8		
2	アンペシリンSナール	211→136	80.0	3.2	76.8	4.4	83.0	9.8	16.7	10.2	5.3	28.9	5.4	29.7	11.5	74.5	22.2	81.1	9.0	80.7	6.3	51.5	3.2	81.1	9.0	80.7	6.3	51.5	3.2	81.1	9.0	80.7	6.3	51.5	3.2	
3	アゾキシストロビン	404→372	84.8	1.6	82.6	2.6	84.8	3.7	86.2	1.7	84.9	0.9	84.9	0.9	73.8	8.7	81.8	4.9	81.8	4.9	81.8	4.9	81.8	4.9	81.8	4.9	81.8	4.9	81.8	4.9	81.8	4.9	81.8	4.9	81.8	4.9
4	アトラマイト	352→191	80.0	3.0	82.5	2.6	79.4	4.7	87.8	1.0	79.7	7.9	85.5	1.7	71.0	5.8	86.0	1.9	86.0	1.9	86.0	1.9	86.0	1.9	86.0	1.9	86.0	1.9	86.0	1.9	86.0	1.9	86.0	1.9	86.0	1.9
5	アルジメキシル	208→116	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	65.5	3.8	81.2	4.1	57.2	4.6	70.3	5.9	81.2	4.1	81.2	4.1	81.2	4.1	81.2	4.1	81.2	4.1	81.2	4.1	81.2	4.1	81.2	4.1	81.2	4.1
6	アルジメキシル	240→86	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
7	イプロジオン	330→245	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
8	イプロジオン	297→159	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
9	エチホキシノゾール	330→121	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
10	オキサミル	237→72	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
11	カルボラ	202→145	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
12	カルボラ	222→165	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
13	キヤロホビエチル	373→239	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
14	クロトキシ	360→164	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
15	クロトキシ	549→40	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
16	クロロフルアスロン	540→383	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
17	クロロフルアスロン	299→172	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
18	シクロエト	233→72	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
19	シクロエト	216→154	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
20	シクロエト	499→181	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
21	シクロエト	303→138	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
22	シクロエト	205→129	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
23	シクロエト	311→158	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
24	シクロエト	388→301	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
25	シクロエト	428→287	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
26-1	2,4-Dピコシム	733→142	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
26-2	2,4-Dピコシム	747→142	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6
27	イソキサフルトール	360→251	80.0	2.1	77.3	2.3	85.0	4.0	82.2	3.0	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6	76.1	4.6	67.0	11.6

真度誤差は0.01ppm以下に測定し、その標準偏差(SD)の5倍とされた。
 真度および精度は、L:試料中0.1µg/g相当を添加 H:試料中0.1µg/g相当を添加
 回収率は、L:試料中0.1µg/g以下にかつ添加回収試験が真度、精度共に適用範囲内であるものを○とし、いずれかが外れるものは×とした。
 総合評価は、定量限界が0.01µg/ml以下にかつ添加回収試験が真度、精度共に適用範囲内であるものを○とし、いずれかが外れるものは×とした。
 平成18年度検定28農薬 n=3 平成19年度検定28農薬 n=5

回収率が8.2%~66.4%と低く適用不可となった。イプロジオンは定量限界が0.023 μg/ml と高く、5作物の回収率も99.1%~224.0%と高くなり適用不可と判断した。ジノテフランは高濃度の添加回収率が62.8%~68.4%となり適用範囲から外れた。バリデーシオンの総合評価は、定量限界が0.01 μg/ml以下であり、作物ごとの添加回収試験が真度、精度共に2濃度で適用範囲内にあることで判断した。その結果、H18年度検討27農薬ではりんごで20農薬、オレンジで21農薬、キャベツで18農薬、ばれいしよで19農薬、ほうれんそうで20農薬が適用可能となった。H19年度検討28農薬では神奈川県内で生産量が大きく流通量の多い農作物として選んだ6作物で試験を行ったが、キャベツ、きゅうり、トマト、いちご、

だいこんで28農薬全てが適用可能となり、ピーマンでは27農薬が適用可能となった。

3. MRM分析の確認法の検討

LC-MS-MSによるMRM分析の結果の確認法として、EUのガイドライン⁷⁾を参考に、今回検討した農薬についてピーク強度の比較を行った。LC-MS-MSのMRM分析では1個のプレカーサーイオンに由来する2個のプロダクトイオンのピーク強度比が一定の許容範囲内に収まるか否かで物質の同定を行う。今回検討した55農薬について、2濃度 (0.01 μg/ml, 0.1 μg/ml) の溶媒標準溶液とマトリックスを含む標準溶液 (マトリックス添加標準溶液) の定量イオンと確認イオンの相対イオン強度比を比較した。結果を表3に示した。

表3 各農薬の定量イオンと確認イオンの相対強度比

Table with 2 main sections: (H18年度検討27農薬) and (H19年度検討28農薬). Each section has columns for Low (0.01 μg/mL) and High (0.1 μg/mL) concentrations, with sub-columns for STD and M-STD (matrix spike) methods. It lists 55 pesticides and their relative ion intensity ratios across various crops like apple, orange, and cabbage.

その結果、H18年度に検討した27農薬では0.01 μ g/mlのイプロジオン、ジノテフラン、シラフルオフェンで2作物、アゾキシストロピン、クロロクスロン、ジウロン、シクロプロトリン、シプロジニルで1作物のマトリックス添加標準溶液の相対イオン強度比が許容範囲から外れたが、0.1 μ g/mlでは27農薬全てが許容範囲内に入った。またH19年度検討28農薬は0.01 μ g/ml、0.1 μ g/ml共に28農薬全ての相対イオン強度比が許容範囲内に入る結果となった。このことより溶媒標準溶液とマトリックス添加標準溶液の定量イオンと確認イオンの相対イオン強度比の比較は、0.01 μ g/mlでは若干許容範囲から外れるものがあったが、0.1 μ g/mlでは今回検討した農薬全てが許容範囲内に収まった。

今回検討したH19年度に検討した28農薬の対象6作物では、きゅうりからイミダクロプリド (0.0032ppm (= μ g/g), 基準値1ppm), ボスカリド (0.0023ppm, 基準値5ppm), ピーマンからフルフェノクスロン (0.025ppm, 基準値2ppm), ボスカリド (0.032ppm, 基準値10ppm), ルフェヌロン (0.0027ppm, 基準値1ppm), トマトからボスカリド (0.021ppm, 基準値5ppm), いちごからヘキシチアゾクス (0.0011ppm, 基準値2ppm) のピークが検出された。今回検討した抽出法は最終的に等倍の試験溶液となるため、検出された試験溶液濃度が作物からの検出濃度となる。いずれも基準値以下の微量であるが、検出されたピークの相対イオン強度比を求めて0.01 μ g/ml溶媒標準溶液の相対イオン強度比と比較し、許容される範囲内に収まるか確認を行った。その結果、きゅうりのイミダクロプリドがイオン強度比1.07となり、0.67~1.00の許容範囲から若干外れたものの、他

6つの検出ピークの相対イオン強度比はそれぞれ許容範囲内となり (きゅうりのボスカリド:0.27, ピーマンのフルフェノクスロン:0.46, ボスカリド:0.28, ルフェヌロン:0.77, トマトのボスカリド:0.26, いちごのヘキシチアゾクス:0.78), 検出農薬の確認が可能であった。

以上のように、MRM法における相対イオン強度比の比較は定量測定時のデータから同時にできるため、再検査を必要とせず迅速に物質確認ができる有効な手法であると考えられた。

(平成20年7月28日受理)

文 献

- 1) 厚生労働省告示第497号 (平成17年11月29日)
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知: 食安発第1129002号 (平成17年11月29日)
- 3) 厚生労働省ホームページ: 分析法検討結果の詳細, 平成17年度 農薬一斉分析法検討結果
<<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/zanryu3/index.html>>
- 4) 神奈川県衛生研究所: 衛生研究所における検査実施標準作業書 (SOP) 作成ガイドライン—理化学編— (2006)
- 5) 厚生省生活衛生局食品保健課: 分析法のバリデーションについて (回答) (平成11年10月8日)
- 6) Official Standards of Codex Alimentarius Commission: CAC/GL 19-1993 (1993)
- 7) Official Journal of the European Communities: 2002/657/EC, L221/8 (2002)