

短報

健康危機管理に係る食品中に含まれる 農薬の迅速試験法 —GC-MS/MS及びLC-MS/MSを用いた検討—

福光徹, 脇ますみ*, 萩尾真人,
林孝子, 桑原千雅子

Fast method for detection of pesticides in foods related to health crisis management using GC-MS/MS and LC-MS/MS

Toru FUKUMITSU, Masumi WAKI*,
Masahito HAGIO, Takako HAYASHI
and Chikako KUWAHARA

緒言

当所では、食品への農薬混入が疑われる事例や、野鳥等動物のへい死事例が発生した際には、必要に応じて農薬検査を実施し、原因究明及び健康被害の発生・拡大防止に努めている。このような健康危機事例に効率的に対応するためには、多様な検査対象品に適用できる迅速な試験法の整備が必要であることから、平成25年3月26日付け事務連絡¹⁾を参考とし、有機リン系農薬を対象として、GC-MSによる食品中に含まれる農薬の迅速試験法をこれまでに構築した（以下、既報²⁾。今回、より広範囲の健康危機事例への対応を可能とするため、既報を改良し、対象農薬を追加して、GC-MS/MS及びLC-MS/MSを用いた試験法を新たに構築し、性能評価を実施したので報告する。

方法

1. 試料

加工食品として冷凍えびドリア、冷凍餃子、冷凍あじ竜田揚げ、白菜キムチ、レトルトカレー及び赤ワインを用いた。また、野鳥のへい死事例を想定した試料として、

未加工の鶏砂肝を用いた。

2. 試薬

対象農薬は、有機リン系66農薬、*N*-メチルカーバメート系17農薬及びその他の系統の7農薬（合計90農薬）とした（表1及び表2）。これらの農薬の標準物質は、富士フイルム和光純薬㈱、林純薬工業㈱、Dr.Ehrenstorfer社又はMerck社（Sigma-Aldrich）製の残留農薬試験用又はその同等品を用いた。標準物質はそれぞれアセトンに溶解し、1,000 mg/Lの標準原液を調製した。各標準原液を混合し、アセトンを用いて各2 mg/Lの混合標準溶液を調製した。

アセトン、アセトニトリル、酢酸エチル及び*n*-ヘキサンは富士フイルム和光純薬㈱製の残留農薬・PCB試験用（濃縮300）、無水硫酸ナトリウムは同社製の残留農薬・PCB試験用、メタノールは同社製のLC/MS用、酢酸アンモニウムはMerck社製のLC/MS用を用いた。水は、Merck社製Milli-Q Integral 5で精製した超純水を使用した。吸引ろ過の際のろ過助剤は富士フイルム和光純薬㈱製のセライトNo.545、ろ紙は東洋濾紙㈱製のNo.5A（φ55 mm）を用いた。分散固相は、ジーエルサイエンス㈱製のInertSep PSAを用いた。

EU Reference Laboratoriesで推奨されているアナライトプロテクタント（以下、AP）^{3,4)}の調製には、Merck社（Sigma-Aldrich）製の3-エトキシ-1,2-プロパンジオール、東京化成工業㈱製のD-(+)-グルコノ-1,5-ラクトン、同社製のD-ソルビトール及びCombi-Blocks社製のシキミ酸を用いた。AP混合液は、上記の4試薬がそれぞれ200 mg/mL、10 mg/mL、5 mg/mL及び5 mg/mLとなるように、アセトニトリル-水（6：4）混液を用いて調製した^{3,4)}。

3. 装置及び測定条件

3. 1 装置

GC-MS/MS：GCはAgilent Technologies社製7890B、MS/MSは同社製7000Dを用いた。

LC-MS/MS：LCは㈱島津製作所製Prominenceシリーズ、MS/MSはSCIEX社製3200 Q TRAPを用いた。

ホモジナイザーは日本精機㈱製バイオミキサーBM-2、振とう機はタイテック㈱製SR-2s、遠心分離機は㈱トミー精工製GRX-220及び久保田商事㈱製6200を用いた。

3. 2 測定条件

GC-MS/MS及びLC-MS/MS測定条件をそれぞれ表3及び表4に、各対象農薬の測定イオンを表1及び表2に示した。測定機器は、ライブラリーを活用することにより多くの農薬を推定できる可能性のあるGC-MS/MSの使用を基本とし（表1）、GCでの測定が困難な*N*-メチルカーバメート系6農薬及びその他の系統の1農薬のみ、LC-

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

MS/MSを使用した（表2）。

4. 試験溶液の調製

既報を改良した，GC-MS/MS及びLC-MS/MS測定用試験溶液の調製方法を図1に示した。本法により，性能評価を実施した。

5. 検量線（絶対検量線法）

各対象農薬の2 mg/L混合標準溶液を3%AP混合液含有・アセトン-*n*-ヘキサン（5：3）混液で希釈して0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06及び0.08 mg/L溶液を調製し，GC-MS/MS測定における検量線用混合標準溶液とした。また，上記の2 mg/L混合標準溶液をメタノールで希釈して0.01, 0.015, 0.02, 0.025, 0.03及び0.04 mg/L溶液を調製し，LC-MS/MS測定における検量線用混合標準溶液とした。検量線は，上記濃度のうち4点以上を用いたピーク面積法による直線検量線（ $r^2 \geq 0.99$ ）とした。

6. 性能評価

事務連絡¹⁾に基づき，性能評価を行った。各対象農薬が0.1 mg/kgとなるように2 mg/L混合標準溶液をブランク試料10.0 gに添加して30分間放置し，添加回収試験を実施した。試験は3併行で実施し，表5に示す4種類の性能パラメータの目標値への適合を確認した。

結果及び考察

1. 対象農薬の選択

既報で対象とした有機リン系66農薬に加え，過去の検出事例及び急性毒性の強さを考慮し，*N*-メチルカーバメート系17農薬を選択した。また，家庭用殺虫剤や園芸用農薬等に用いられ，入手が容易な農薬として，その他の系統の7農薬を選択した。

2. 試験法の検討

2. 1 GC-MS/MSによる試験法

既報では，GC-MSを用いた選択イオンモニタリング（SIM）による測定を行い，対象の有機リン系農薬のうち，90%以上の農薬が性能評価に適合した。しかし，SIM測定のため，クロマトグラムに試料由来と考えられる妨害ピークやノイズが多く，目的ピークの分離が不十分な農薬や，選択性の評価が不適合となる農薬があった。また，性能評価に不適合となった農薬の多くは，回収率が200%を超えていたことから，試料由来成分，すなわちマトリックスの影響を強く受けていると考えられた。

そこで，妨害ピークやノイズの影響を抑制するため，GC-MS/MSを用いた選択反応モニタリング（SRM）による測定を行った。また，GC-MS/MSは，JetCleanセルフクリーニングイオン源を搭載した機種を用いた。これは，微量の水素ガスを流してイオン源の汚染を最小限に抑制する機能であり，イオン源のメンテナンス頻度を低

減させるだけでなく，測定におけるマトリックスの影響を抑制する効果も認められている⁵⁾。

さらに，試験溶液の調製方法についても，既報から若干変更した。主な変更点を次に示した。まず，操作の簡便化を目的とし，酢酸エチル抽出液の減圧濃縮を省略し，分散固相を加えて振とうする時間を10分間から3分間に短縮した。また，マトリックスの影響の抑制を目的とし，酢酸エチル抽出液の分取量を試料0.5 g相当（10 mLにメスアップして0.5 mLを分取）から0.4 g相当（100 mLにメスアップして4 mLを分取）に減少させた。

以上のように変更した測定方法及び試験溶液調製方法（以下，変更法）を用いて，有機リン系66農薬を対象とし，冷凍餃子を試料として検討したところ，既報ではアジンホスメチル，アニロホス及びバミドチオンの3農薬の回収率が200%を超えたのに対し，変更法では全ての有機リン系対象農薬の回収率が目標値を満たして200%未満となり，マトリックスの影響を抑制することができた。また，ピーク分離及び選択性も向上し，全ての有機リン系対象農薬において選択性の評価が適合となった。

変更法について，*N*-メチルカーバメート系及びその他の系統の24農薬のうち，GC-MS/MS測定対象とした17農薬を追加し，合計83農薬に対して冷凍餃子を試料として検討したところ，レスメトリンの回収率が50%未満となったが，他の追加農薬の回収率は目標値を満たした。一方，鶏砂肝を試料とした場合，回収率が50%未満の農薬はなかったが，アセフェート，オメトエート，バミドチオン，ホスチアゼート，ホスファミドン，カルボフラン及びメチオカルブの7農薬の回収率が200%を超えた。そこで，さらなるマトリックスの影響の抑制を目的とし，試験溶液へのAPの添加を検討した^{3, 4)}。試験溶液及び検量線用混合標準溶液の溶媒を，アセトン-*n*-ヘキサン（1：1）混液から3%AP混合液含有・アセトン-*n*-ヘキサン（5：3）混液^{3, 4, 6)}に変更し，鶏砂肝を試料として全ての対象農薬についてAPの効果を検討したところ，いずれも回収率が目標値を満たして200%未満となり，マトリックスの影響をさらに抑制することができた。

2. 2 LC-MS/MSによる試験法

試験溶液の調製方法は，GC-MS/MSによる試験法と可能な限り同様とし，試験溶液の溶媒のみをメタノールに変更した。分析カラムは，測定の迅速性を考慮し，一般的に使用される全多孔性カラムに比べて高速分析が可能なコアシェルカラムを用いることとした。この試験法を用いて，LC-MS/MS測定対象とした7農薬に対し，冷凍餃子を試料として検討したところ，チオジカルブの回収率が50%未満となったが，他の農薬の回収率は目標値を満たした。

表1 GC-MS/MS測定対象農薬, 測定イオン及び性能評価結果

農薬	分類*	測定イオン (m/z)		RT (分)	回収率 (%)						
		定量	確認		冷凍えび ドリア	冷凍餃子	白菜 キムチ	冷凍あじ 竜田揚げ	レトルト カレー	赤ワイン	鶏砂肝
1	EPN	OP	169 > 77	157 > 110	18.8	92.3	100.4	102.5	93.6	91.4	95.0
2	アジンホスエチル	OP	160 > 132	160 > 77	20.1	93.8	105.7	102.9	108.7	97.4	97.0
3	アジンホスメチル	OP	160 > 132	160 > 77	19.6	103.7	105.7	98.4	111.3	95.7	120.4
4	アセフェート	OP	136 > 42	136 > 94	8.7	54.0	58.6	71.1	68.7	54.6	73.7
5	アニロホス	OP	226 > 184	226 > 157	19.1	95.8	104.7	109.4	122.1	96.2	112.3
6	イサゾホス	OP	257 > 162	257 > 119	12.8	87.3	94.3	95.1	96.5	86.8	87.3
7	イソキサチオン	OP	177 > 130	313 > 130	16.7	97.4	176.8	111.9	125.1	89.8	110.0
8	イソフェンホス	OP	213 > 121	213 > 185	15.2	87.2	95.2	94.3	101.2	89.9	84.1
9	イプロベンホス	OP	204 > 91	204 > 122	13.1	85.3	93.9	94.9	98.0	86.0	93.8
10	エチオン	OP	231 > 129	231 > 175	17.2	85.0	94.5	94.8	97.9	87.1	93.5
11	エディフェンホス	OP	310 > 173	310 > 109	17.8	96.9	104.7	105.9	114.8	91.4	119.3
12	エトプロホス	OP	158 > 97	158 > 114	10.9	76.4	87.1	88.5	92.1	76.4	81.2
13	エトリムホス	OP	292 > 181	292 > 153	12.9	80.4	87.9	86.1	92.9	86.3	82.3
14	オメトエート	OP	156 > 110	156 > 79	10.5	86.6	87.4	92.7	86.4	81.7	97.3
15	カズサホス	OP	159 > 97	158 > 114	11.5	71.1	73.9	74.2	77.9	69.4	69.1
16	キナルホス	OP	146 > 118	146 > 91	15.4	85.7	95.4	94.2	97.9	86.9	93.3
17	クロルピリホス	OP	314 > 258	314 > 286	14.4	77.5	84.8	85.0	83.2	78.0	77.1
18	クロルピリホスメチル	OP	286 > 93	286 > 271	13.5	80.8	89.1	86.8	92.0	81.1	78.7
19-1	クロルフェンビンホス (E)	OP	267 > 159	323 > 267	15.1	92.0	102.0	92.7	100.8	93.7	101.0
19-2	クロルフェンビンホス (Z)	OP	267 > 159	323 > 267	15.3	90.6	98.7	97.2	104.8	90.3	97.6
20	サリチオン	OP	216 > 137	216 > 183	11.4	86.8	93.8	89.8	99.6	85.8	79.6
21	シアノフェンホス	OP	303 > 141	303 > 169	17.7	91.1	101.1	100.3	105.8	92.8	98.2
22	シアノホス	OP	243 > 109	243 > 116	12.5	89.7	97.1	94.6	103.7	88.0	92.1
23	ジクロフェンチオン	OP	279 > 223	279 > 205	13.4	74.0	82.9	82.0	83.6	78.0	72.6
24	ジクロロホス	OP	185 > 93	220 > 185	6.7	53.0	80.6	80.8	81.5	79.7	59.2
25	ジスルホトン	OP	186 > 97	274 > 88	12.8	89.0	132.3	122.2	137.7	141.2	169.9
26	ジメチルビンホス (Z)	OP	295 > 109	295 > 79	14.5	91.7	99.3	98.7	105.6	88.7	95.5
27	ジメトエート	OP	125 > 47	125 > 79	12.0	99.0	118.1	115.8	117.2	103.6	104.7
28	スルプロホス	OP	322 > 156	322 > 139	17.5	84.2	99.5	100.6	99.8	90.4	108.0
29	ダイアジノン	OP	199 > 93	304 > 179	12.5	76.0	84.9	82.0	80.2	73.0	72.9
30	テトラクロルビンホス	OP	329 > 109	329 > 79	15.8	94.1	102.4	100.2	108.7	93.9	96.9
31	テルブホス	OP	231 > 129	231 > 175	12.4	75.2	86.5	83.0	85.4	86.8	78.7
32	トリアゾホス	OP	257 > 162	285 > 162	17.5	91.9	101.1	101.7	112.7	88.1	101.6
33	トリブホス	OP	202 > 113	169 > 113	16.4	57.5	64.3	60.5	65.4	63.2	64.5
34	トルクロホスメチル	OP	265 > 250	265 > 93	13.7	84.1	92.9	89.4	89.5	84.4	79.2
35	バミドチオン	OP	145 > 87	145 > 112	15.9	107.5	122.6	121.6	128.0	121.1	140.3
36	パラチオン	OP	291 > 109	291 > 81	14.6	88.8	93.6	102.1	97.9	92.0	99.0
37	パラチオンメチル	OP	263 > 109	263 > 246	13.7	94.7	98.5	96.7	94.7	92.7	94.5
38	ピペロホス	OP	140 > 98	320 > 122	18.8	89.4	96.9	103.6	102.4	93.0	93.3
39	ピラクロホス	OP	194 > 138	360 > 97	20.2	85.5	107.9	106.3	116.6	98.6	100.2
40	ピラゾホス	OP	221 > 193	232 > 204	19.9	91.0	101.0	104.2	109.9	96.1	100.5
41	ピリダフェンチオン	OP	340 > 199	340 > 109	18.6	92.8	107.8	110.2	97.2	100.2	103.5
42	ピリミホスメチル	OP	290 > 125	305 > 180	14.0	82.0	89.2	88.2	93.0	84.9	85.7
43	フェナミホス	OP	303 > 195	303 > 288	16.1	105.5	124.3	125.5	130.1	124.4	135.0
44	フェニトロチオン	OP	277 > 260	277 > 109	14.2	93.9	102.1	95.6	103.0	94.4	93.4
45	フェンスルホチオン	OP	293 > 97	293 > 125	17.1	92.7	102.8	104.9	111.0	89.4	107.7
46	フェンチオン	OP	278 > 109	278 > 169	14.5	89.3	102.6	100.0	102.1	98.2	106.0
47	フェントエート	OP	274 > 121	274 > 93	15.4	91.1	100.1	98.3	97.8	90.8	94.4
48	ブタミホス	OP	286 > 202	286 > 185	16.0	93.1	102.1	99.8	95.8	90.1	100.5
49	プロチオホス	OP	267 > 239	309 > 239	16.2	62.0	70.5	71.4	74.3	67.6	68.7
50	プロパホス	OP	304 > 220	304 > 140	15.7	90.8	105.0	110.4	107.7	106.2	116.4
51	プロフェノホス	OP	339 > 269	339 > 311	16.3	83.8	86.8	92.2	102.6	84.4	95.6
52	プロモホス	OP	331 > 316	331 > 93	14.9	75.9	86.1	87.2	87.3	79.8	78.2
53	プロモホスエチル	OP	359 > 303	359 > 331	15.7	66.3	72.5	77.6	77.0	67.8	69.0
54	ホサロン	OP	182 > 111	367 > 182	19.4	96.2	100.6	104.0	112.1	98.0	98.9
55	ホスチアゼート I, II	OP	195 > 103	195 > 60	14.9	96.3	99.3	103.6	108.1	95.1	101.1
56-1	ホスファミドン I	OP	264 > 127	264 > 193	12.6	98.2	97.6	100.6	98.1	95.0	95.8
56-2	ホスファミドン II	OP	264 > 127	264 > 193	13.3	88.9	90.7	106.1	89.0	93.4	98.3
57	ホスメット	OP	160 > 77	160 > 133	18.8	90.6	97.4	100.1	106.7	88.9	96.7
58	ホルモチオン	OP	170 > 93	198 > 93	13.2	68.6	69.0	69.0	80.6	71.2	86.0
59	ホレート	OP	231 > 175	260 > 75	11.6	78.6	97.3	90.0	106.5	82.1	77.6
60	マラチオン	OP	173 > 99	173 > 127	14.3	92.2	99.4	93.6	100.5	90.4	100.6
61	メカルバム	OP	159 > 131	329 > 159	15.3	88.7	101.3	91.5	90.0	87.7	97.1
62	メタクリホス	OP	208 > 180	240 > 180	9.4	77.2	91.0	87.6	93.7	78.7	64.7
63	メタミドホス	OP	141 > 95	141 > 79	6.7	74.5	87.2	90.7	87.4	93.5	110.0
64	メチダチオン	OP	145 > 85	145 > 58	15.7	90.6	98.7	99.2	102.3	91.5	92.2
65	メビンホス (E), (Z)	OP	192 > 127	127 > 109	8.6	84.0	98.0	95.4	101.8	86.4	96.3
66	モノクロトホス	OP	192 > 127	127 > 109	11.4	86.2	82.1	86.7	90.1	78.4	99.5

* 分類 OP:有機リン系農薬, CA: N-メチルカーバメート系農薬, 無印:その他の系統の農薬
回収率が目標値を満たしたものは, 選択性, 併行精度及びS/N比も目標値を満たした.

表 1 続き

農薬	分類*	測定イオン (m/z)		RT (分)	回収率 (%)						
		定量	確認		冷凍えび ドリア	冷凍餃子	白菜 キムチ	冷凍あじ 竜田揚げ	レトルト カレー	赤ワイン	鶏砂肝
67 XMC	CA	122 > 107	122 > 77	10.1	86.6	97.9	97.9	104.9	87.6	93.8	95.1
68 イソプロカルブ	CA	121 > 77	136 > 121	9.9	85.2	95.8	92.7	95.8	82.2	89.4	83.3
69 カルバリル	CA	144 > 115	201 > 144	13.8	92.3	96.2	97.0	102.6	85.9	91.5	90.7
70 カルボスルファン	CA	160 > 62	160 > 57	18.5	119.0	102.0	71.1	134.5	113.2	0.0	91.8
71 カルボフラン	CA	164 > 149	164 > 103	12.0	76.8	88.0	85.7	98.6	81.9	102.9	99.1
72 ピリミカルブ	CA	238 > 166	166 > 96	13.0	87.1	96.4	99.8	96.9	87.6	101.8	86.8
73 フェノブカルブ	CA	121 > 77	150 > 121	10.6	86.0	95.4	94.6	103.4	91.2	88.9	88.1
74 フラチオカルブ	CA	163 > 107	163 > 135	19.2	86.5	101.1	102.7	107.2	94.1	97.1	53.2
75 ベンダイオカルブ	CA	166 > 151	223 > 166	11.3	90.2	95.2	95.2	101.4	88.4	95.7	89.6
76 ベンフラカルブ	CA	190 > 74	190 > 144	19.9	194.0	175.8	143.1	93.3	194.9	0.0	122.8
77 メチオカルブ	CA	168 > 153	153 > 109	14.2	94.2	102.5	104.7	112.9	93.2	103.6	110.7
78 アセタミブリド		152 > 116	207 > 166	18.7	94.8	120.3	139.7	112.8	114.7	75.6	126.0
79-1 テトラメトリン I		164 > 77	164 > 107	18.6	90.3	97.2	109.5	103.4	93.2	99.3	95.7
79-2 テトラメトリン II		164 > 77	164 > 107	18.8	90.7	96.0	112.1	104.4	89.8	97.4	93.9
80 フィプロニル		367 > 213	351 > 255	15.1	93.4	99.5	103.4	102.8	91.3	101.7	86.3
81-1 フェノトリン I		183 > 168	183 > 153	19.2	82.0	83.2	87.2	125.2	72.5	91.1	107.0
81-2 フェノトリン II		183 > 168	183 > 153	19.3	68.2	77.1	76.1	88.2	75.1	75.5	87.5
82-1 ペルメトリン (cis)		183 > 168	163 > 127	20.5	58.4	89.8	84.2	107.8	80.4	69.4	92.9
82-2 ペルメトリン (trans)		183 > 168	163 > 127	20.6	72.9	87.8	97.5	99.0	80.6	80.5	103.5
83-1 レスメトリン I		171 > 128	171 > 143	18.2	71.9	48.9	89.0	91.4	75.2	87.9	103.5
83-2 レスメトリン II		171 > 128	171 > 143	18.3	74.9	33.6	68.4	87.2	72.6	82.2	84.7

* 分類 OP：有機リン系農薬，CA：N-メチルカーバメート系農薬，無印：その他の系統の農薬
回収率が目標値を満たしたものは，選択性，併行精度及びS/N比も目標値を満たした。

：回収率が目標値を満たさなかったもの

表 2 LC-MS/MS測定対象農薬，測定イオン及び性能評価結果

農薬	分類*	測定イオン (m/z)		RT (分)	回収率 (%)						
		定量	確認		冷凍えび ドリア	冷凍餃子	白菜 キムチ	冷凍あじ 竜田揚げ	レトルト カレー	赤ワイン	鶏砂肝
84 アラニカルブ	CA	400 > 238	400 > 91	10.1	91.9	52.7	83.7	82.5	86.4	17.0	63.9
85 アルジカルブ	CA	208 > 116	208 > 89	8.4	79.9	96.0	84.3	85.7	64.7	85.0	78.8
86 アルドキシカルブ	CA	240 > 86	240 > 148	5.3	88.8	96.0	90.7	89.2	91.2	93.8	82.7
87 オキサミル	CA	237 > 72	237 > 90	5.8	91.5	96.5	89.3	95.6	90.3	91.6	71.5
88 チオジカルブ	CA	355 > 88	355 > 108	9.4	50.4	39.8	83.6	4.1	80.2	46.1	2.2
89 メソミル	CA	163 > 88	163 > 106	6.2	115.5	124.5	94.5	158.0	93.0	114.5	132.6
90 ジノテフラン		203 > 129	203 > 114	4.9	87.6	91.9	90.2	82.4	91.6	95.7	72.0

* 分類 CA：N-メチルカーバメート系農薬，無印：その他の系統の農薬
回収率が目標値を満たしたものは，選択性，併行精度及びS/N比も目標値を満たした。

：回収率が目標値を満たさなかったもの

表 3 GC-MS/MS測定条件

GC	
カラム	VF-5ms (Agilent Technologies社) 内径0.25 mm, 長さ30 m, 膜厚0.25 μ m
カラム昇温条件	50°C (1分) - 25°C/分 - 125°C (0分) - 10°C/分 - 300°C (10分)
キャリアガス	ヘリウム
流量	クロルピリホスメチルの保持時間を 13.5分に設定して調整 (リテンションタイムロッキング使用)
注入口温度	250°C
注入量	1 μ L
注入方法	スプリットレス
MS/MS	
イオン源温度	320°C
JetClean 水素流量	0.4 mL/分 (測定とクリーニング)
イオン化法	電子イオン化 (EI) (70 eV)
測定モード	選択反応モニタリング (SRM)

表 4 LC-MS/MS測定条件

LC	
カラム	CAPCELL CORE ADME (株式会社ソーダ) 2.1 mm I.D. × 100 mm, 粒子径 2.7 μ m
ガードカラム	SUMIPAX Filter HB (株式会社分析センター)
カラム温度	40°C
移動相	A液：5 mM酢酸アンモニウム水溶液 B液：5 mM酢酸アンモニウム ・メタノール溶液
グラジエント	B液 (%)：0分 (5%) - 10分 (100%) - 15分 (100%) - 16分 (5%) (直線グラジエント)
流量	0.3 mL/分
注入量	5 μ L
MS/MS	
イオンスプレー 電圧	5500 V
脱溶媒ガス温度	600°C
イオン化法	エレクトロスプレーイオン化, ポジティブモード (ESI+)
分析モード	選択反応モニタリング (SRM)

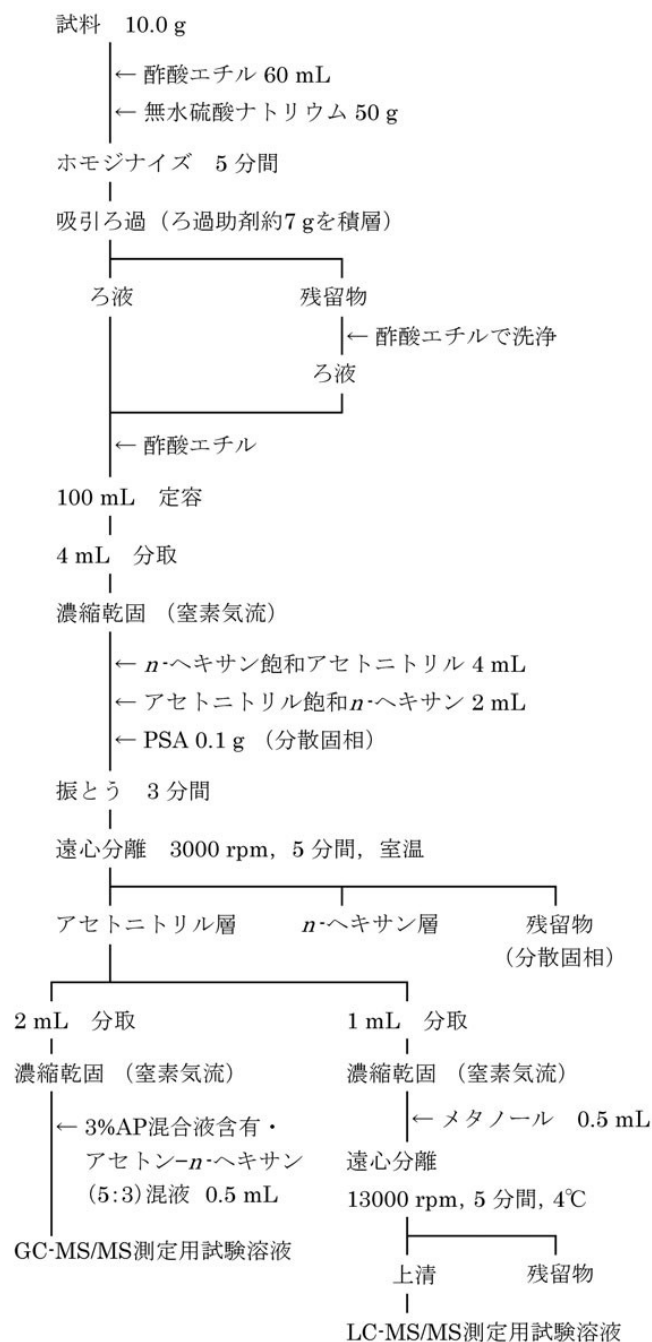


図1 試験溶液の調製方法

3. 性能評価

各試料について、3 併行で添加回収試験を実施した結果を表1 及び表2 に示した。

有機リン系農薬は、全試料において選択性、回収率、併行精度及びS/N比の全てのパラメータが目標値を満たした(表1)。既報では多くの試料においてホルモチオンの回収率が50%未満であったが、今回、試験溶液の調製方法を簡便化したことから、精製操作における農薬の損失が抑制され、回収率の向上に繋がった可能性が考えられた。

表5 性能評価における性能パラメータ及び目標値

性能パラメータ	目標値
選択性	ブランク試料から測定を妨害するピーク(妨害ピーク)が検出されないこと。妨害ピークを認める場合は、添加濃度(0.1 mg/kg)に相当する検量線用混合標準溶液(GC-MS/MS: 0.04 mg/L, LC-MS/MS: 0.02 mg/L)のピーク面積の1/3未満であること。
回収率	添加回収率の平均値が50%~200%であること。
併行精度	相対標準偏差(RSD)が30%未満であること。
S/N比	回収率の評価で得られたピークのS/N比が10以上であること。

有機リン系以外の農薬についても、全試料において回収率は200%未満であり、多くの農薬が性能評価に適合した(表1 及び表2)。性能評価に適合しなかった農薬のうち、チオジカルブは冷凍餃子、冷凍あじ竜田揚げ、赤ワイン及び鶏砂肝の4試料、アラニカルブは赤ワインにおいて回収率が50%未満となったが(表2)、2 農薬ともに、試料成分の影響によりメソミルに分解したことが回収率低下の原因の1つと考えられた^{7,8)}。なお、冷凍あじ竜田揚げにチオジカルブのみを添加して検討を行ったところ、チオジカルブだけでなくメソミルも検出されたことから、チオジカルブが分解した場合であっても、メソミルの検出により原因農薬の推測は可能であると考えられる。また、赤ワインにおけるカルボスルファン及びベンフラカルブの2 農薬については、ピークが検出されなかった(表1)。この2 農薬については、GC分析において試料成分の影響等によりカルボフランに分解されやすいことが知られている⁹⁾。そこで、LC-MS/MSによる測定を実施したところ、GC-MS/MSの結果と同様に、ピークが検出されなかった。このことから、この2 農薬については、赤ワイン中の成分の影響により、試験溶液調製時に分解した可能性が考えられた。なお、この2 農薬を赤ワインに個別に添加してGC-MS/MSで測定したところ、それぞれカルボフランのピークは検出されたことから、2 農薬の混入事例であっても、カルボフランの検出により、チオジカルブの例と同様に、原因農薬の推測は可能であると考えられる。ただし、この2 農薬は、GC-MS/MS測定におけるAPの影響により、機器の状態によっては標準溶液であってもカルボフランへの分解が促進し、2 農薬のピークが検出されない現象が認められた。一方、LC-MS/MS測定では、このような現象は認められなかったことから、2 農薬が検出されない赤ワインを除く試料については、今後、LC-MS/MSによる性能評価を

実施する必要があると考える。

まとめ

既報の試験法を改良し、対象農薬を追加してGC-MS/MS及びLC-MS/MSを用いた食品中の農薬の迅速試験法を構築した。有機リン系農薬及び*N*-メチルカーバメイト系農薬等から選択した90農薬のうち、冷凍えびドリア、白菜キムチ及びレトルトカレーは全農薬、冷凍餃子は88農薬、冷凍あじ竜田揚げ及び鶏砂肝は89農薬、赤ワインは86農薬が性能評価に適合した。既報で不適合であった有機リン系農薬は全て適合となった。多様な食品試料において多種の農薬が性能評価に適合したことから、本法は、より広範囲の健康危機事例に適用できる有用な試験法であると考ええる。

文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡：加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について、平成25年3月26日
- 2) 福光徹，小菅教仁，脇ますみ，林孝子，岸弘子：健康危機管理に係る食品中に含まれる農薬の迅速試験法の検討，神奈川衛研報告，**47**，14-19 (2017)
- 3) EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, Use of Analyte Protectants in GC-Analysis: a way to improve peak shape and reduce decomposition of susceptible compounds
〈http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/srm/EURL_Observation-APs.pdf〉 (2020/ 4 /30 アクセス)
- 4) EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, What to pay attention to when using Analyte Protectants (AP)
〈https://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/srm/AP_UsingAP_SRM.pdf〉 (2020/ 4 /30アクセス)
- 5) 杉立久仁代，穴沢秀峰，中井隆志，中村貞夫：JetCleanセルフクリーニングイオン源搭載GC/MS/MSを用いた食品中残留農薬分析におけるマトリックス効果の低減，アジレント・テクノロジー(株) アプリケーションノート
- 6) Akutsu, K., Kitagawa, Y., Yoshimitsu, M., Takatori, S., Fukui, N., Osakada, M. et al. : Problems and solutions of polyethylene glycol co-injection method in multiresidue pesticide analysis by gas chromatography-mass spectrometry: evaluation of instability phenomenon in type II pyrethroids and its suppression by novel analyte protectants, Anal. Bioanal. Chem., **410** (13), 3145-3160. (2018)
- 7) 永山敏廣,小林麻紀,塩田寛子,森野雅世,伊藤正子,田村行弘：農産物中の*N*-メチルカーバメイト系農薬分析法，食品衛生学雑誌，**35**(5)，470-478 (1994)
- 8) 伊藤正子,永山敏廣,小林麻紀,橋本常生,羽石奈穂子,田村康宏ほか：HPLCによる農産物中アラニカルブの分析法，食品衛生学雑誌，**39**(3)，218-224 (1998)
- 9) 外海泰秀,中村優美子,津村ゆかり,柴田正,木村実加,大田光恵ほか：ベンフラカルブ及びカルボスルファンのGC分析に及ぼす食品由来成分の影響，食品衛生学雑誌，**36**(4)，506-515 (1995)