

# LC/MS/MS による農産物の残留農薬等一斉分析法妥当性評価

山口 玲子

(環境保健研究所 健康科学課)

**要 旨** 農産物の残留農薬等一斉分析法の使用機器 LC/MS/MS を更新する機会に測定項目の見直しを行い、農産物 8 品目に対する妥当性評価を実施した。その結果、評価項目数 107 のうち評価基準に適合した項目数は、キャベツ 96、にんじん 103、こまつな 99、ばれいしょ 99、あまなつ 99、茶 58、落花生 97、小麦粉 100 であった。

**Key Words** : 残留農薬等一斉分析法, LC/MS/MS, 妥当性評価

## 1. はじめに

農産物の残留農薬等一斉分析法に使用する LC/MS/MS を更新する機会に合わせて、測定項目の見直しと混合標準液の変更を行った。それに伴い厚生労働省医薬食品局安全部長通知平成 22 年 12 月 24 日付け食安発 1224 第 1 号「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」<sup>1)</sup> (以下「ガイドライン」という) に基づき妥当性評価を実施したので報告する。

## 2. 試料

ガイドラインに基づき代表的な食品として以下の農産物 8 品目を選択した。

- (1) キャベツ (イオウ化合物を含むもの)
- (2) にんじん (その他)
- (3) こまつな (葉緑素を多く含むもの)
- (4) ばれいしょ (デンプンを多く含むもの)
- (5) あまなつ (果実)
- (6) 茶
- (7) 落花生 (豆類・種実類)
- (8) 小麦粉 (穀類)

にんじんについては、過去の依頼実績が多いことから評価対象に加えた。

## 3. 方法

ガイドライン<sup>1)</sup>に基づき、添加濃度は 0.01ppm (一律基準値) と 0.1ppm の 2 濃度、真度は添加試料を 6 回測定し得られた結果の平均値の添加濃度に対する比を求め、精度は実施者 1 名が 1 日 1 回 (3 併行) 5 日間実施する枝分かれ実験を行った。また、定量下限値

は 0.005 ppm とした。各添加濃度の真度および精度の目標値を表 1 に示した。

表 1 各添加濃度の真度および精度の目標値

| 濃度 (ppm) | 真度 (%) | 併行精度 (%) | 室内精度 (%) |
|----------|--------|----------|----------|
| 0.01     | 70~120 | 25>      | 30>      |
| 0.1      | 70~120 | 15>      | 20>      |

## 4. 試薬・試液・精製カラム

### 4. 1 試薬・試液

#### 4. 1. 1 標準品および標準液

標準品は富士フィルム和光純薬製のクレソキシムメチル標準品、クロルピリホス標準品、ジエトフェンカルブ標準品、ピリダベン標準品、メラタキシル標準品、メタラキシル-M 標準品、フルジオキシニル標準品を使用した。各標準品をメタノールで溶解し 200ppm に調製した後、混合希釈し 20ppm の混合標準液とした。

標準液は林純薬社製の PL2005 農薬 LC/MS Mix 4、PL2005 農薬 LC/MS Mix 5、PL2005 農薬 LC/MS Mix 6、PL2005 農薬 LC/MS Mix 7、STQ-LC 法用農薬混合標準液 (極性 53 物質) を使用した。

全ての標準液をメタノールで混合希釈して 2ppm の標準原液とし、それを適宜希釈して使用した。

#### 4. 1. 2 その他の試薬・試液

##### 4. 1. 2. 1 試薬

塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム、りん酸水素ニカリウム、りん酸二水素カリウムは特級、アセトン、アセトニトリル、n-ヘキサン、トルエンは残留農薬試験用、メタノール、酢酸アンモニウムは LC/MS 用を使用した。

#### 4. 1. 2. 2 試液

アセトン n-ヘキサン (1:1) 混液 : アセトン 500mL に n-ヘキサン 500 mL を加える。

アセトン n-ヘキサン (15:85) 混液 : アセトン 150 mL に n-ヘキサン 850 mL を加える。

アセトニトリルトルエン (3:1) 混液 : アセトニトリル 750 mL に トルエン 250 mL を加える。

0.5mol/L リン酸緩衝液 (pH7.0) : リン酸水素二カリウム (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 52.7g およびリン酸二水素カリウム (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 30.2g 量り採り、水約 500mL に溶解し、1mol/L 水酸化ナトリウム又は 1mol/L 塩酸を用いて pH を 7.0 に調整した後、水を加えて 1L とする。

#### 4. 2 精製カラム

- (1) オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (以下「C18」という)

InertSep C18FF (1g) 6mL ( GL サイエンス社製) (野菜、果実に使用)

InertSep C18FF (2g) 12mL ( GL サイエンス社製) (穀類、豆類・種実類、茶に使用)

- (2) グラファイトカーボン N-プロピルエチレンジアミンミニカラム (以下「GC/PSA」という)

ENVI-carb II /PSA (500mg/500mg) 6mL (スペルコ社製) (野菜、果実に使用)

InertSep GC/PSA (1g/1g) 20 mL ( GL サイエンス社製) (穀類、豆類、種実類に使用)

InertSep GC/PSA (2g/1g) 20mL (GL サイエンス社製) (茶に使用)

- (3) シリカゲルミニカラム (以下「SI」という)

InertSep SIFF (1g) 6mL (GL サイエンス社製) (茶に使用)

#### 5. LC/MS/MS 測定条件

測定機器 (島津製作所製)

LCMS-8050

- (1) HPLC 条件

カラム : アジレントテクノロジー株式会社製

Poroshell 120 EC-C18

2.1mm×100mm 2.7um

カラム温度 : 40°C

流量 : 0.3 mL/min (初期) → 0.3 mL/min

(15分) → 0.4 mL/min (16分) →

0.4 mL/min (19分) → 0.3 mL/min

(25分)

グラジエント条件

移動相 A:10mM 酢酸アンモニウム水溶液

B:メタノール

A:B=85:15 (初期) → 60:40 (0.5分) → 60:40

(1.75分) → 50:50 (3分) → 45:55

(4分) → 5:95 (8.75分) → 5:95 (20分)

→ 85:15 (20.1分・5分間ホールド)

- (2) MS/MS 条件

ESI-Positive Negative MRM モード

インターフェイス温度 300°C

DL 温度 150°C

ネフライザーガス流量 3.00L/min

ヒーティングガス流量 10.00L/min

ヒートブロック温度 400°C

ドライイングガス流量 10.00L/min

#### 6. 抽出方法

試験溶液調製方法は既報<sup>2)</sup>に従った (図 1、2)。

平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法」<sup>3)</sup> (以下「通知」という) を基本として試験溶液を調製し、茶については SI 精製を追加することで、カフェイン等の夾雑物質の影響を軽減した。

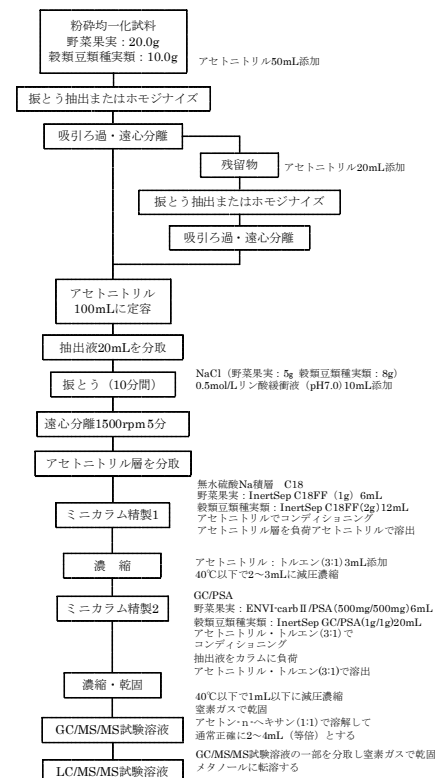


図 1 野菜、果実、豆類・種実類、穀類抽出方法

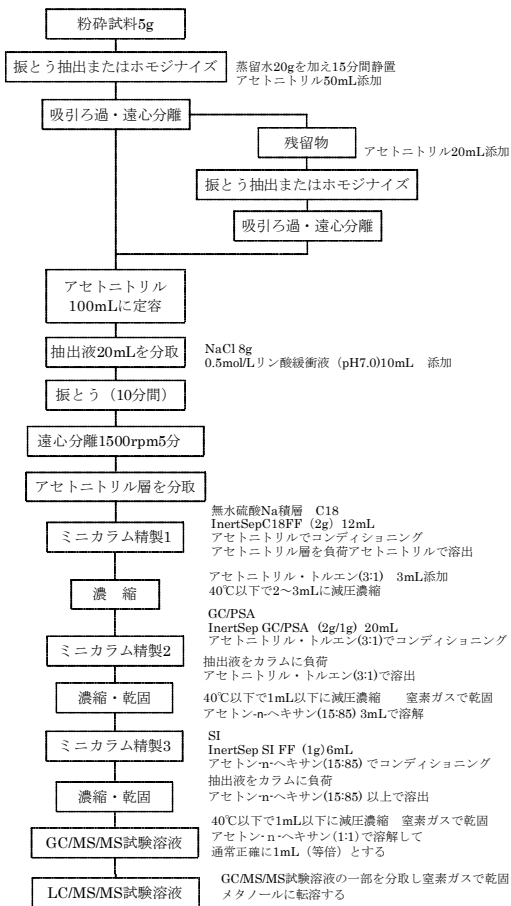


図2 茶抽出方法

茶については半数近くの項目が不適合であり、不適合となった項目の多くは極性が高いといわれている項目であった。この原因はミニカラム精製に野菜等では使用していないSIを追加していることが考えられた。SIは極性物質の除去に有効とされ<sup>4)</sup>、茶の夾雑物質であるカフェイン除去のために使用している。当所では、2014年までSI精製を行わずに茶のGC/MS測定用試験溶液を調製していた。しかし、TICにより夾雑物質巨大ピークが複数確認されていたこと、試験溶液中に夾雑物質が析出し機器分析に影響を及ぼしていたことから、既報<sup>5)</sup>の検討を経てSI精製を追加した。また、2020年に実施したGC/MS/MSによる農産物の残留農薬等一斉分析法妥当性評価においても、茶についてはSI精製を追加して試験溶液を調製している<sup>2)</sup>。このため、GC/MS/MSによる農産物の残留農薬等一斉分析法の試験溶液調製後、その一部を分取しメタノールに転溶して機器分析を行うLC/MS/MSによる農産物の残留農薬等一斉分析法だけでSI精製を行わず試験溶液を調製することは難しい。茶はカフェインやカテキンなど特有の夾雑物質が多く存在することや、乾燥した葉を検体とすることで夾雑物質がより濃縮されていることなど他の農産物とは異なる性質があり、多くの農産物と同じ一斉分析法では測定が難しい項目が出てくることは想定内のことであった。今後茶について極性が高いとされる項目の測定を行うとすれば、通知<sup>3)</sup>の別添にある個別試験法を参考に測定方法を検討していく必要があると考える。

機器更新に伴い測定項目の見直しを行ったことで、厚生労働省が都道府県等における食品中の農薬等の検査結果を収集・集計している食品中の残留農薬検査結果の2016~2018年度<sup>6),7),8)</sup>において、国内産農産物に検出割合が高かった農薬24項目のうち、当所での測定項目数が機器更新前は1項目であったが、8項目に増加した。実際に検出頻度の高い農薬の検査項目数を増やすことで、食品安全の向上により一層寄与していきたい。

### 7. 評価項目および妥当性評価結果

評価項目数107のうち、評価基準に適合した項目数はキャベツ96、にんじん103、こまつな99、ばれいしょ99、あまなつ99、茶58、落花生97、小麦粉100であった(表2)。

### 8. 考察

茶以外の農産物(キャベツ、にんじん、こまつな、ばれいしょ、あまなつ、落花生、小麦粉)では評価基準に適合した項目数が測定項目数の90%以上となった。

表2 測定項目および妥当性評価結果

| No | 農産物名<br>項目名  | キャベツ       | にんじん | こまつな | ばれいしょ | あまなつ    | 茶          | 落花生        | 小麦粉        |
|----|--------------|------------|------|------|-------|---------|------------|------------|------------|
|    |              | 適合項目数      | 96   | 103  | 99    | 99      | 99         | 58         | 97         |
| 1  | 1-ナフチルアセトアミド | ○          | ○    | ○    | ○     | ○       | ×(1)(2)(3) | ○          | ○          |
| 2  | TCMTB        | ×(1)(2)(3) | ○    | ○    | ○     | ○       | ○          | ○          | ○          |
| 3  | アザメチホス       | ×(3)       | ○    | ○    | ×(1)  | ×(1)    | ×(1)(2)(3) | ○          | ○          |
| 4  | アジンホスメチル     | ○          | ○    | ○    | ○     | ○       | ○          | ○          | ○          |
| 5  | アセタミプリド      | ○          | ○    | ○    | ○     | ○       | ×(1)(2)(3) | ○          | ○          |
| 6  | アセフェート       | ×(1)       | ×(1) | ×(1) | ×(1)  | ×(1)(3) | ×(1)(2)(3) | ×(1)(2)(3) | ×(1)(2)(3) |
| 7  | アゾキシストロピン    | ○          | ○    | ○    | ○     | ○       | ×(1)(2)(3) | ○          | ○          |
| 8  | アトラジン        | ○          | ○    | ○    | ○     | ○       | ○          | ×(3)       | ○          |
| 9  | アニロホス        | ○          | ○    | ○    | ○     | ○       | ○          | ○          | ○          |
| 10 | イプロバリカルブ     | ○          | ○    | ○    | ○     | ○       | ×(1)       | ○          | ○          |



表 2 つづき

| №   | 農産物名         | キャベツ      | にんじん  | こまつな  | ばれいしょ     | あまなつ      | 茶             | 落花生       | 小麦粉   |
|-----|--------------|-----------|-------|-------|-----------|-----------|---------------|-----------|-------|
|     | 適合項目数<br>項目名 | 96        | 103   | 99    | 99        | 99        | 58            | 97        | 100   |
| 81  | フルシラゾール      | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | × (1) (3)     | ○         | ○     |
| 82  | フルトラニル       | ○         | ○     | ○     | ○         | × (3)     | × (3)         | ○         | ○     |
| 83  | フルトリアホル      | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | × (1) (2) (3) | ○         | ○     |
| 84  | フルフェナセット     | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |
| 85  | フルフェノクスロン    | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |
| 86  | プロバキザホップ     | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |
| 87  | プロボキスル       | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |
| 88  | ヘキサコナゾール     | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | × (1) |
| 89  | ヘキサジノン       | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | × (1) (2) (3) | ○         | ○     |
| 90  | ヘキシチアゾクス     | × (3)     | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |
| 91  | ヘキサフロムロン     | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |
| 92  | ベンシクロン       | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |
| 93  | ベンゾフェナップ     | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |
| 94  | ペンダイオカルブ     | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |
| 95  | ボスカリド        | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |
| 96  | ホスチアゼート      | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | × (1)         | ○         | ○     |
| 97  | ホスファミドン      | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | × (1) (2) (3) | ○         | ○     |
| 98  | メタベンズチアズロン   | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |
| 99  | メタミドホス       | × (1) (3) | × (1) | × (1) | × (1) (3) | × (1) (3) | × (1) (2) (3) | × (1)     | × (1) |
| 100 | メタラキシル       | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | × (1) (3) | ○     |
| 101 | メチルジメトン      | ○         | ○     | ○     | × (1)     | ○         | × (3)         | × (1) (3) | ○     |
| 102 | メトキシフェノジド    | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |
| 103 | メビンホス        | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | × (1) (2) (3) | ○         | ○     |
| 104 | モノクロトホス      | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | × (1) (2) (3) | ○         | ○     |
| 105 | ラクトフェン       | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |
| 106 | リニューロン       | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |
| 107 | ルフェヌロン       | ○         | ○     | ○     | ○         | ○         | ○             | ○         | ○     |

○：目標値適合 ×：目標値を満たさなかったもの

(1)：真度不適合 (2)：併行精度不適合 (3)：室内精度不適合

文 献

- 厚生労働省医薬品食品局安全部長通知：食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について，食安発 1224 第 1 号，平成 22 年 12 月 24 日
- 山口玲子，“GC/MS/MS による農産物の残留農薬等一斉分析法妥当性評価，” 千葉県環境保健研究所年報，第 28 号：2021，pp.74-78.
- 厚生労働省医薬品食品局安全部長通知：食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法，食安発第 0124001 号，平成 17 年 1 月 24 日
- 株式会社アイスティサイエンス，“食品中残留農薬分析技術セミナー2014－夏－～STQ 法の基礎と応用解説と予冷式ドライアイス凍結粉碎の実演～資料集”，2014，pp.32.
- 山口玲子，“ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた茶の残留農薬一斉分析法の検討と妥当性評価，” 千葉県環境保健研究所年報，第 21 号：2014，pp.51-56.
- 厚生労働省医薬品・生活衛生局食品基準審査課残留農薬等基準審査室：平成 30 年度食品中の残留農薬検査結果，令和 2 年 8 月 19 日。
- 厚生労働省医薬品・生活衛生局食品基準審査課残留農薬等基準審査室：平成 29 年度食品中の残留農薬検査結果，令和 2 年 8 月 19 日。
- 厚生労働省医薬品・生活衛生局食品基準審査課残留農薬等基準審査室：平成 28 年度食品中の残留農薬検査結果，令和元年 12 月 25 日。