

# LC-MS/MS による農作物中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価について

佐々木翼 葉原美菜 石田陽子\*1 向井 猛 山口弘行 三觜 雄

## 要 旨

当所では平成 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」の別添「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」に基づき、2014 年にほうれんそう、オレンジを対象とした LC-MS/MS による残留農薬一斉試験法の妥当性評価を行った。今回、適用作物及び試験項目の拡大を目的として、試料調製法、LC-MS/MS 更新による測定条件及び対象農薬の 3 点を見直し、ほうれんそう、キャベツ、ばれいしょ、オレンジ、りんごの 5 作物を対象とした妥当性評価を再度行った。その結果、各作物 76 農薬中 8 割以上が目標値を満たし、適用作物及び農薬数を増やすことができた。

## 1. 結 言

本市における残留農薬検査については、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」の別添「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」(以下「ガイドライン」という。)<sup>1)</sup>により規格基準への適合を判定する全ての試験法について、妥当性評価を行うことが必要となった。

このため、ガイドラインに従い、2014 年にほうれんそう、オレンジを対象に、LC-MS/MS を用いた妥当性評価を実施し報告してきた<sup>2)</sup>。

今回、適用作物及び試験項目の拡大を目的として、試料調製法、新たに導入した LC-MS/MS による測定条件及び評価農薬の 3 点を見直し、再度ガイドラインに基づき妥当性評価を行ったため、その結果について報告する。

## 2. 方 法

### 2-1 対象試料

ガイドラインに例示された代表的な農作物である

ほうれんそう、キャベツ、ばれいしょ、オレンジ、りんごの 5 作物を対象とした。

### 2-2 標準液及び試薬

#### (1) 標準原液

関東化学社製の農薬混合標準液 54, 58 及び 78 (各 10 µg/mL メタノール溶液) を使用した。これらをメタノールで希釈し、2 µg/mL 混合標準液に調製した。

なお、フェリムゾン<sup>3)</sup>は、E 体及び Z 体のピーク位置が重複したため、混合標準液中の濃度は 4 µg/mL となっている。

#### (2) 試薬等

LC 移動相用の酢酸アンモニウム、リン酸緩衝液に用いたリン酸水素ニカリウム及びリン酸二水素カリウムは特級を使用した。その他の試薬は残留農薬試験用または LC-MS 用を使用した。

固相カートリッジは、アジレント社製 MEGA BE-C18 (1000mg, 6mL) 及び MEGA BE-SAX /PSA (500mg/500mg, 6mL) を使用した。

### 2-3 LC-MS/MS の測定条件

#### (1) LC 部

装置 : Shimadzu Nexera X2

\*1 現下水道河川局事業推進部排水指導課

カラム : ACQUITY UPLC® BEH C18, 2.1 x 100 mm

I.D. 1.7 μm

カラム温度 : 40°C

流速 : 0.3 mL/min

注入量 : 5 μL

サンプルクーラー : 4°C

注入モード : Partial Loop

移動相 : A : 5mmol/L 酢酸アンモニウム in H<sub>2</sub>O

B : 5mmol/L 酢酸アンモニウム

in メタノール

分析時間 : 20min (カラム平衡化時間含む)

グラジエント条件 : 表 1 のとおり。

表 1 グラジエント条件

Time	%A	%B
0.0	95	5
1.0	70	30
2.0	55	45
11.0	25	75
14.0	2	98
16.0	2	98
16.1	95	5
20.0	95	5

## (2) MS 部

装置 : SCIEX QTRAP4500

イオン化法 : ESI(+), (-)

分析モード : MRM

ネブライザーガス : 70psi

脱溶媒ガス : 50psi

イオンスプレー電圧 : 5500V(+), -4500V(-)

脱溶媒温度 : 425°C

MRM 条件 : 表 2 のとおり。

## 2-4 試験溶液の調製

図 1 のフローチャートのとおりに行った。

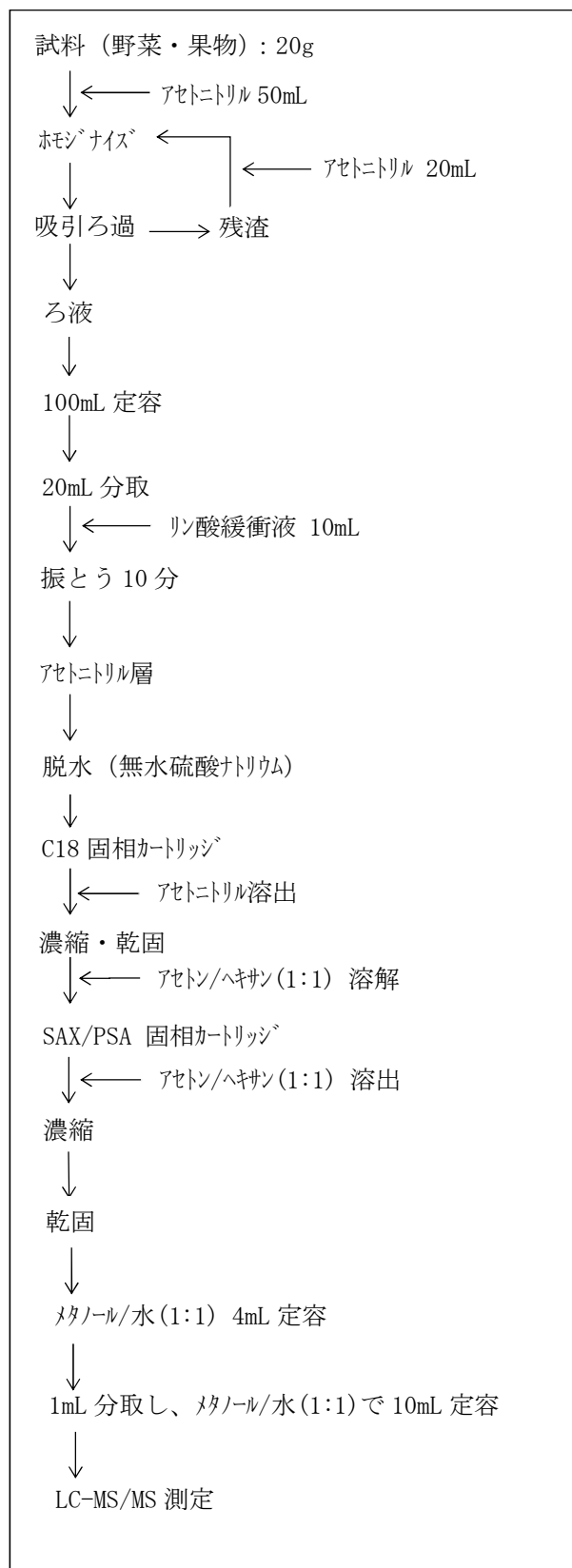


図 1 試験溶液調製方法 (フローチャート)

表2 MRM条件

農薬名	プリカーサー イオン(m/z)	プロダクト イオン(m/z)	定量イオン			定性イオン			
			DP(V)	CE(V)	CXP(V)	プロダクト イオン(m/z)	DP(V)	CE(V)	CXP(V)
1 アザメチホス	325.00	183.00	51	21	10	112.10	51	51	10
2 アジンホスメチル	318.10	160.00	56	13	10	132.00	56	21	10
3 アゾキシストロビン	404.10	372.10	71	19	10	344.10	71	29	10
4 アニロホス	368.00	199.10	71	19	10	125.00	71	42	10
5 イソキサフルトール	360.10	251.10	76	24	10	144.10	76	75	10
6 イプロバリカルブ	321.20	119.00	86	23	10	203.20	86	12	10
7 イマザリル	297.00	159.00	61	31	10	255.00	61	21	10
8 イミダクロプリド	256.00	209.00	81	21	10	175.00	81	25	10
9 インダノファン	341.10	175.10	61	21	10	187.10	61	19	10
10 インドキサカルブ	529.00	203.00	91	55	16	149.80	91	29	10
11 エポキシコナゾール	330.00	121.00	76	27	10	101.00	76	63	10
12 オキサジクロメホン	376.10	190.10	66	21	10	161.10	66	37	10
13 オキサミル	237.10	72.10	58	25	10	90.10	58	11	10
14 オキシカルボキシ	268.00	175.00	71	19	10	147.00	71	29	10
15 オリザリン	345.10	281.10	-65	-24	-6	78.00	-65	-60	-6
16 カルバリル	202.10	145.10	66	16	10	127.10	66	39	10
17 カルプロパミド	336.10	139.10	76	27	10	103.10	76	55	10
18 クミルロン	303.10	185.10	71	17	10	125.10	71	43	10
19 クロチアニジン	250.00	169.00	66	17	10	132.00	66	21	10
20 クロフェンテジン	302.93	138.00	61	21	10	102.00	61	53	10
21 クロマフェノジド	395.20	175.10	56	23	10	147.10	56	61	10
22 クロメプロップ	324.10	120.10	71	31	10	203.10	71	21	10
23 クロリダゾン	222.00	92.00	90	35	10	65.10	90	56	10
24 クロロクスロン	291.10	72.00	81	41	10	164.30	81	23	10
25 ジウロン	232.90	72.00	46	37	10	46.10	46	31	10
26 シクロエート	216.10	154.10	25	17	10	83.10	66	19	10
27 シフルフェナミド	413.10	295.10	81	21	10	203.10	81	57	10
28 ジフルベンズロン	310.97	157.90	66	21	14	140.90	66	51	10
29 シプロジニル	226.03	93.00	76	57	8	77.10	76	69	4
30 シメコナゾール	294.10	70.10	71	35	10	73.10	71	45	10
31 ジメチリモール	210.20	71.00	86	45	10	140.20	86	31	10
32 ジメトモルフE	388.20	301.10	76	27	10	165.10	76	43	10
33 ジメトモルフZ	388.10	301.10	76	27	10	165.10	76	43	10
34 シラフルオフエン	426.20	287.20	51	23	10	168.10	51	49	10
35 スピノシンA	732.50	142.30	111	37	10	98.10	111	81	10
36 スピノシンD	746.50	142.30	111	47	10	98.10	111	79	10
37 ダイアレート	269.95	86.10	71	21	8	109.00	71	41	8
38 ダイムロン	269.20	151.20	66	17	10	91.10	76	55	10
39 チアクロプリド	252.94	125.90	71	29	10	89.90	71	51	8
40 チアベンダゾール	202.00	175.00	91	35	10	131.00	91	43	10
41 チアメトキサム	292.00	211.00	86	17	10	181.00	86	31	10
42 テブチウロン	229.20	172.40	61	21	10	116.10	61	35	10
43 テブフェノジド	353.10	133.10	76	23	10	297.10	76	15	10
44 テフルベンズロン	381.00	141.00	81	53	10	158.00	81	23	10
45 トラルコキシジム(異性体1, 2)	330.12	284.10	116	19	14	137.90	116	27	12
46 トリチコナゾール	318.10	70.00	71	33	10	125.10	71	41	10
47 トリデモルフ(異性体1, 2)	298.25	130.20	96	35	6	116.10	96	33	10
48 トリフルムロン	359.10	156.20	66	23	10	139.00	66	43	10
49 ナブロアニリド	292.10	171.10	70	20	10	120.10	70	35	10
50 ノバルロン	493.00	158.10	86	27	10	141.10	86	69	10

DP : Declustering Potential、CE : Collision Energy、CXP : Collision Cell Exit Potential

表2 MRM条件(続き)

農薬名	プリカーサー イオン(m/z)	プロダクト イオン(m/z)	定量イオン			定性イオン			
			DP(V)	CE(V)	CXP(V)	プロダクト イオン(m/z)	DP(V)	CE(V)	CXP(V)
51 ビラクロストロピン	388.10	163.10	50	29	10	105.10	50	55	10
52 ビラゾリネート	439.10	173.00	80	26	10	91.10	80	50	10
53 ビリフタリド	319.10	139.10	96	40	10	179.10	96	40	10
54 ビリミカーブ	239.20	72.10	68	34	10	182.20	68	21	10
55 フェノキシカルブ	302.20	88.10	63	28	10	116.20	63	16	10
56 フェノブカルブ	208.10	95.10	62	19	10	152.10	62	11	10
57 フェリムゾン (E+Z)	255.10	91.10	85	45	10	132.10	85	27	10
58 フェンアミドン	312.10	92.10	56	37	10	236.10	56	21	10
59 フェンピロキシメート	422.19	135.20	96	44	6	215.00	96	39	14
60 フェンメディファム	301.04	136.00	66	29	10	167.90	66	13	12
61 ブタフェナシル	492.10	331.10	66	29	10	180.10	66	63	10
62 フラメトピル	334.10	157.10	86	39	10	290.10	86	23	10
63 フルフェナセット	364.00	152.00	46	27	10	194.00	46	17	10
64 フルフェノクスロン	489.10	158.10	121	27	10	141.10	121	57	10
65 フルリドン	330.10	310.10	106	37	10	259.10	106	59	10
66 プロパキザホップ	444.10	100.10	66	29	10	163.10	66	65	10
67 ヘキサフルムロン	459.00	439.00	-130	-18	-10	175.00	-125	-44	-10
68 ヘキシチアゾクス	353.10	228.10	96	21	10	168.10	96	33	10
69 ペンシクロン	329.10	125.10	81	33	10	89.10	81	87	10
70 ベンゾフェナップ	431.10	105.10	91	45	10	119.10	91	27	10
71 ベンダイオカルブ	224.10	167.10	68	12	10	109.10	68	25	10
72 ボスカリド	343.00	307.00	106	27	10	140.00	106	27	10
73 メタバベンズチアズロン	222.10	165.20	66	21	10	150.30	66	41	10
74 メトキシフェノジド	369.20	149.10	71	23	10	91.10	71	65	10
75 モノリニユロン	215.10	126.10	66	23	10	148.10	66	21	10
76 ラクトフェン	478.96	343.90	46	23	14	222.90	46	47	10
77 リニユロン	249.92	183.00	61	23	8	160.90	61	27	10
78 ルフェヌロン	508.90	175.00	-60	-46	-10	325.00	-60	-24	-10

DP : Declustering Potential、CE : Collision Energy、CXP : Collision Cell Exit Potential

## 2-5 検量線の作成

混合標準液を水/メタノール(1:1)で希釈し、0.0005~0.01 μg/mLの5点を調製し、絶対検量線法により検量線を作成した。

## 2-6 妥当性評価の方法

実施者2名が1日1回(2併行)3日間、または実施者3名が1日1回(2併行)2日間実施する枝分かれ実験計画に基づき、0.01ppm及び0.05ppm(フェリムゾンは0.02ppm及び0.10ppm)の2濃度で添加回収試験を行った。ガイドラインに従い、選択性、定量限界、真度、併行精度、室内精度の5項目を評価した。なお、真度、併行精度及び室内精度は表3の目標値に適合するか評価した。

表3 真度及び精度の目標値

濃度 (ppm)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
0.01	70-120	< 25	< 30
0.02~0.10	70-120	< 15	< 20

## 3. 結果

### 3-1 選択性

5作物の無添加試料について分析を行い、定量を妨害するピークの有無を確認したところ、トリデモルフがキャベツ、ばれいしょ、オレンジ及びびりんごで、イマザリル及びチアベンダゾールがオレンジで、目標値に対して不適合であった。

### 3-2 検量線及び定量限界

検量線について確認したところ、良好な直線性を得られなかった農薬はルフエヌロン 1 農薬であった。

定量限界について、添加試料(0.01ppm、フェリムズンは0.02ppm)から得られるピークのS/N比を確認したところ、目標値であるS/N比 $\geq 10$ を満たさなかった農薬は、トラルコキシジムの1農薬であった。

### 3-3 真度・精度

添加濃度0.01ppm及び0.05ppm(フェリムズンは0.02ppm及び0.10ppm)の評価結果より、ほうれんそう7農薬、キャベツ8農薬、ばれいしょ7農薬、オレンジ12農薬、りんご5農薬が不適合であった。

## 4. まとめ

全ての評価項目を満たした農作物毎の農薬数は表4のとおりである。各作物76農薬中8割以上が目標値を満たした。

ほうれんそう及びオレンジは、従来の適合農薬数以上の農薬が目標値を満たした。各農薬の結果は表5のとおりである。5作物に共通して目標値を満たさなかったものは6農薬であった。

表4 妥当性評価結果

対象作物	適合農薬数	従来の適合農薬数
ほうれんそう	68	46
キャベツ	67	-
ばれいしょ	68	-
オレンジ	64	39
りんご	69	-

## 5. 結 語

残留農薬検査のLC-MS/MS一斉試験法について妥当性評価を行ったところ、適用作物及び農薬数を増やすことができた。今後も市民の食の安全を守るために、国内外の情勢を見極めながら、検査農薬や試験法の精査・拡充を図っていく予定である。

## 6. 文 献

- 1) 厚生労働省：平成22年12月24日食安発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(別添)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
- 2) 柳田麻有, 石田陽子, 小野准子 他：食品中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価について, 札幌市衛生研究所年報, 41, 56-68 (2014)

表5 妥当性評価結果

農薬名	ほうれんそう	キャベツ	ばれいしょ	オレンジ	りんご
1 アザメチホス	○	○	○	○	○
2 アジンホスメチル	○	○	○	○	○
3 アゾキシストロビン	○	○	○	○	○
4 アニロホス	○	○	○	○	○
5 イソキサフルトール	×	×	×	×	×
6 イプロバリカルブ	○	○	○	○	○
7 イマザリル	○	○	○	×	○
8 イミダクロプリド	○	○	○	○	○
9 インダノファン	○	○	○	○	○
10 インドキサカルブ	○	○	○	○	○
11 エポキシコナゾール	○	○	○	○	○
12 オキサジクロメホン	○	○	○	○	○
13 オキサミル	○	○	○	○	○
14 オキシカルボキシシン	○	○	○	○	○
15 オリザリン	○	○	○	○	○
16 カルバリル	○	○	○	○	○
17 カルプロパミド	○	○	○	○	○
18 クミルロン	○	○	○	×	○
19 クロチアニジン	×	×	×	×	×
20 クロフェンテジン	○	○	○	○	○
21 クロマフェノジド	○	○	○	○	○
22 クロメプロップ	○	○	○	○	○
23 クロリダゾン	○	○	○	○	○
24 クロロクスロン	○	○	○	○	○
25 ジウロン	○	○	○	○	○
26 シクロエート	○	○	○	○	○
27 シフルフェナミド	○	○	○	○	○
28 ジフルベンズロン	○	○	○	○	○
29 シプロジニル	○	○	○	○	○
30 シメコナゾール	○	○	○	○	○
31 ジメチリモール	○	×	○	×	○
32 ジメトモルフ	○	○	○	○	○
33 シラフルオフエン	×	×	×	×	×
34 スピノサド	○	○	○	○	○
35 ダイアレート	○	○	○	○	○
36 ダイムロン	○	○	○	○	○
37 チアクロプリド	○	○	○	○	○
38 チアベンダゾール	×	×	×	×	×
39 チアメトキサム	○	○	○	○	○
40 テブチウロン	○	○	○	○	○
41 テブフェノジド	○	○	○	○	○
42 テフルベンズロン	○	○	○	○	○
43 トラルコキシジム	×	×	×	×	×
44 トリチコナゾール	○	○	○	○	○
45 トリデモルフ	○	×	×	×	×
46 トリフルムロン	○	○	○	○	○
47 ナプロアニリド	○	○	○	○	○
48 ノバルロン	○	○	○	○	○
49 ピラクロストロビン	○	○	○	○	○
50 ピラゾリネート	×	×	○	○	○

○：適合、×：不適合

ジメトモルフ：ジメトモルフE及びジメトモルフZの和

スピノサド：スピノシンA及びスピノシンDの和

表5 妥当性評価結果（続き）

農薬名	ほうれんそう	キャベツ	ばれいしょ	オレンジ	りんご
51	ピリフタリド	○	○	○	○
52	ピリミカーブ	○	○	○	○
53	フェノキシカルブ	○	○	○	○
54	フェノブカルブ	○	○	○	○
55	フェリムゾン	○	○	○	○
56	フェンアミドン	○	○	○	○
57	フェンピロキシメート	○	○	○	○
58	フェンメディファム	○	○	○	○
59	ブタフェナシル	○	○	○	○
60	フラメトピル	○	○	○	○
61	フルフェナセット	○	○	○	○
62	フルフェノクスロン	×	○	○	○
63	フルリドン	○	○	○	○
64	プロバキザホップ	○	○	○	○
65	ヘキサフルムロン	○	○	○	○
66	ヘキシチアゾクス	○	○	○	○
67	ペンシクロン	○	○	○	○
68	ベンゾフェナップ	○	○	○	○
69	ベンダイオカルブ	○	○	○	○
70	ボスカリド	○	○	○	○
71	メタベンズチアズロン	○	○	○	○
72	メトキシフェノジド	○	○	○	○
73	モノリニュロン	○	○	○	○
74	ラクトフェン	○	○	○	○
75	リニュロン	○	○	○	○
76	ルフェヌロン	×	×	×	×

○：適合、×：不適合