

GC/MS 残留農薬一斉分析法における農産物別の分析項目の検討

鈴木昭彦, 川田好徳, 金成徹, 味戸一宏, 赤城理恵, 竹村悦子, 斎藤和男
理化学グループ

要 旨

平成 18 年 5 月のポジティブリスト制度の施行に伴い、「GC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）」が通知された。当所においても、平成 18 年度食品安全対策事業の一環である農産物中の残留農薬検査において本法を採用するとともに、検査対象となるすべての農産物・農薬の組み合わせについて添加回収試験を実施し、バリデーションを行った。その結果、平成 18 年度検査実施分について、53 農産物・118 農薬（異性体含む）のうち 23 の農産物・農薬の組み合わせで、回収率が 70 %を下回った。

キーワード：ポジティブリスト制度，残留農薬，一斉分析法，GC/MS

はじめに

「食品衛生法等の一部を改正する法律」（平成 15 年法律第 55 号）に基づき、食品に残留する農薬、飼料添加物及び動物用医薬品を原則すべて規制する、いわゆる「ポジティブリスト制度」が平成 18 年 5 月 29 日に施行された。それに伴い「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について」（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）において、新たに「GC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）」が示された。

従前、当所においては、「残留農薬迅速分析法の利用について」（平成 9 年 4 月 8 日付け衛化第 43 号）の方法で農産物中の残留農薬検査を実施してきた。一斉分析法の通知を受けて、平成 18 年度食品安全対策事業の一環である農産物中の残留農薬検査において一斉分析法を採用することを目指し、平成 17 年度中に分析項目の検討及び分析方法の開発を行った。これにより、平成 18 年度から 114 農薬について検査を実施することが可能になった。

通知で示された「分析対象化合物」は、農産物成分の特性を代表する 7 種類の農産物による検討の結果、適用可能と判定されたものであり¹⁾、当所で検査対象となるすべての農

産物における多成分同時分析を保証するものではない²⁾。厳密には、農産物の種類ごとにそのマトリックスは異なっており、前処理中及び GC/MS 分析時のマトリックス効果によって農薬の挙動が変化する可能性がある³⁾。したがって、一斉分析に際しては、検査対象となるすべての農産物・農薬の組み合わせについて、バリデーションを行う必要がある。

当所の検査実施標準作業書（SOP）では、「農作物の種類ごとに検査試料の分析と併行した添加回収試験を実施」して「回収率が概ね 70 %以上になることを確認すること」と規定して、分析結果のマトリックスによる影響を評価することとしている。そこで、平成 18 年度に実施した GC/MS 残留農薬一斉分析法における農産物別の分析項目の検討結果をまとめたので報告する。

材 料

1 試料

平成 18 年度食品安全対策事業において検査実施したもの：オレンジ、グレープフルーツ、かぶ（根）、なす、だいこん（根）、バナナ、レタス、ピーマン、かぼちゃ、アスパラガス、さくらんぼ、未成熟えんどう、ブロッコリー、きゅうり、にんじん、梅、ブルーベリー、キャベツ、にんにく、レモン、トマト、ミニトマト、未成熟いんげん、えだまめ、

すもも、もも、ばれいしょ、ぶどう、キウイフルーツ、日本なし、りんご、ごぼう、さといも、カリフラワー、たまねぎ、玄米、西洋なし、なめこ、かき、大豆、しいたけ、みかん、しゅんぎく、はくさい、にら、ほうれんそう、ねぎ、えのきたけ、みつば、いちご、かんしょ、れんこん、セロリ (計 53 農産物)。

2 試薬

1) 標準品

114 (異性体含み 118) 農薬を表 1 に示した。なお、ジクロシメット、ジフェノコナゾール、シハロトリン、ビテルタノール、ペルメトリン及びホスチアゼート標準品は、異性体混合物である。

2) 試薬等

- (1) アセトニトリル：残留農薬試験用
- (2) 塩化ナトリウム：残留農薬試験用
- (3) ケイソウ土：化学分析用ケイソウ土 (セライト No.545)
- (4) 0.5mol/L リン酸緩衝液：K₂HPO₄ (特級) 105g 及び KH₂PO₄ (特級) 61g を水に溶かし、

1mol/L 塩酸又は 1mol/L NaOH で pH7.0 に調製し、水を加えて 2000mL としたもの

- (5) 無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用
- (6) トルエン：残留農薬試験用
- (7) ヘキサン：残留農薬試験用
- (8) アセトン：残留農薬試験用
- (9) C18 カラム：バリアン社製 MEGA-Bond Elut C18 (1000mg)
- (10) グラファイトカーボン/NH₂ カラム：スペルコ社製スペルクリン ENVI-Carb/LC-NH₂ (500mg/500mg)

(11) トルエン：アセトニトリル (1:3) 混液：トルエン及びアセトニトリルを体積比 1:3 で混合したもの

(12) アセトン：ヘキサン (1:1) 混液：アセトン及びヘキサンを体積比 1:1 で混合したもの

3) 器具装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC/MS) : Agilent 6890N/Agilent5973MSD 及び 5975MSD

表 1 標準品

混合標準溶液A		混合標準溶液B	
No	名称	No	名称
1	EPN	31	ジエトフェンカルブ
2	XMC	32	ジクロシメット
3	アクリナトリン	33	ジクロフェンチオン
4	アトラジン	34	ジコホール
5	アニロホス	35	シハロトリン
6	アメトリン	36	ジフェノコナゾール
7	アラクロール	37	ジフルフェニカン
8	イソキサチオン	38	シマジン
9	イソプロカルブ	39	ジメタメトリン
10	イソプロチオラン	40	ジメチルビンホス (E)
11	ウニコナゾールP	41	ジメチルビンホス (Z)
12	エスプロカルブ	42	ジメテナミド
13	エチオン	43	ジメトエート
14	エディフェンホス	44	シメトリン
15	エトキサゾール	45	ジメピペレート
16	エトフェンプロックス	46	スピロジクロフェン
17	エトリムホス	47	ターバシル
18	オキサジキシル	48	ダイアジノン
19	カズサホス	49	チオベンカルブ
20	カフェンストロール	50	チフルザミド
21	キナルホス	51	テトラコナゾール
22	クロルピリホス	52	テニルクロール
23	クロルピリホスメチル	53	テブコナゾール
24	クロルフェナビル	54	テブフェンピラド
25	クロルフェンビンホス (E)	55	テフルトリン
26	クロルフェンビンホス (Z)	56	テルブホス
27	クロルプロファミ	57	トリフルラリン
28	クロロベンジレート	58	トリフロキシストロビン
29	シアナジン	59	トルクロホスメチル
30	シアノホス	60	ナプロバミド
61	バクロプロトラゾール	90	ブタミホス
62	パラチオンメチル	91	ブプロフェジン
63	ハルフェンプロックス	92	フルアクリピリム
64	ビテルタノール	93	フルシトリネート
65	ビフェントリン	94	フルトラニル
66	ピペロホス	95	フルミオキサジン
67	ピラクロホス	96	ブレチラクロール
68	ピラフルフェンエチル	97	プロシミドン
69	ピリダフェンチオン	98	プロチオホス
70	ピリダベン	99	プロピザミド
71	ピリフェノックス (E)	100	プロフェノホス
72	ピリフェノックス (Z)	101	プロボキシル
73	ピリプチカルブ	102	プロマシル
74	ピリプロキシフェン	103	プロメトリン
75	ピリミノバックメチル (E)	104	プロモブチド
76	ピリミノバックメチル (Z)	105	ヘキサコナゾール
77	ピリミホスメチル	106	ペルメトリン
78	ピリメタニル	107	ペンコナゾール
79	ピロキロン	108	ペンディメタリン
80	フィプロニル	109	ペンフレセート
81	フェナリモル	110	ホサロン
82	フェニトロチオン	111	ホスチアゼート
83	フェノキサニル	112	マラチオン
84	フェノチオカルブ	113	ミクロブタニル
85	フェンチオン	114	メチダチオン
86	フェントエート	115	メトラクロール
87	フェンプロパトリン	116	メフェナセツト
88	フサライド	117	メプロニル
89	ブタクロール	118	レナシル

方法

1 標準溶液の調製

1) 標準原液 (1000ppm)

標準品 10.0mg を精秤し、溶媒 (アセトン及びヘキサン若しくはメタノール) で 10mL に定容した。

2) 混合標準溶液 A 及び B (10ppm)

農薬を A 及び B の 2 グループに分け (表 1), それぞれ各標準原液 0.5mL を混合しアセトンで 50mL に定容した。

3) 検量線用標準溶液の調製

「2)」で調製した混合標準溶液 A 及び B を混合し、アセトン：ヘキサン (1：1) 混液で希釈して 0.04, 0.1, 0.25, 0.5ppm 溶液を調製した。

2 前処理

前処理のフローチャートを図 1 に示した。

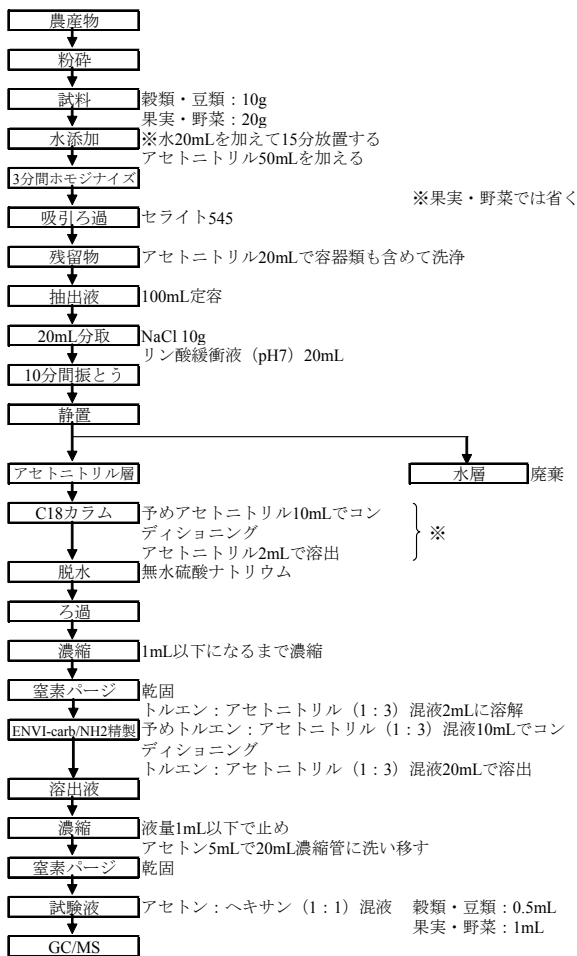


図 1 前処理フローチャート

1) 穀類・豆類の場合

試料 10g をブレンダーカップに量りとり、水 20mL を加え、15 分間放置し、アセトニトリル 50mL を加え、3 分間ホモジナイズした。

これをケイソウ土を 1cm の厚さに敷いたろ紙を用いて、100mL メスフラスコに吸引ろ過した。ろ紙上の残留物及びブレンダーカップをアセトニトリル 20mL で洗浄した後、ろ液を 100mL に定容した。

この抽出液のうち 20mL を 100mL 分液ろうとに分取し、塩化ナトリウム 10g 及び 0.5mol/L リン酸緩衝液 20mL を入れ、振とう機で 10 分間振とうした。10 分間程度静置した後、水層を捨てた。

予めアセトニトリル 10mL でコンディショニングした MEGA-Bond Elut C18 (1000mg) にアセトニトリル層を導入し、アセトニトリル 2mL で溶出させ、適量の無水硫酸ナトリウムを加え、振とう、脱水を行った。

脱水後、ろ紙を用いてろ過し、硫酸ナトリウムを除去し、40 °C 以下で減圧蒸留し、窒素ガスで乾固させ、残渣をトルエン：アセトニトリル (1：3) 混液 2mL に溶かした。

予めトルエン：アセトニトリル (1：3) 混液 10mL でコンディショニングした ENVI-Carb/LC-NH2 カラムに、得られた抽出液全量 (2mL) を負荷し、トルエン：アセトニトリル (1：3) 混液 20mL で溶出させた。

40 °C 以下で 1mL 以下に減圧濃縮をし、アセトン 5mL を加え、窒素ガスで乾固させ、アセトン：ヘキサン (1：1) 混液 0.5mL で溶解し、GC/MS 試験液とした。

2) 果実・野菜の場合

試料 20g をブレンダーカップに量りとり、水 20mL を加え、15 分間放置し、アセトニトリル 50mL を加え、3 分間ホモジナイズした。

これをケイソウ土を 1cm の厚さに敷いたろ紙を用いて、100mL メスフラスコに吸引ろ過した。ろ紙上の残留物及びブレンダーカップをアセトニトリル 20mL で洗浄した後、ろ液を 100mL に定容した。

この抽出液のうち 20mL を 100mL 分液ろうとに分取し、塩化ナトリウム 10g 及び

0.5mol/L リン酸緩衝液 20mL を入れ、振とう機で 10 分間振とうした。10 分間程度静置した後、水層を捨てた。

アセトニトリル層に適量の無水硫酸ナトリウムを加え、振とう、脱水を行った。

脱水後、ろ紙を用いてろ過し、硫酸ナトリウムを除去し、40℃以下で減圧蒸留し、窒素ガスで乾固させ、残渣をトルエン：アセトニトリル（1：3）混液 2mL に溶かした。

予めトルエン：アセトニトリル（1：3）混液 10mL でコンディショニングした ENVI-Carb/LC-NH₂ カラムに、得られた抽出液全量（2mL）を負荷し、トルエン：アセトニトリル（1：3）混液 20mL で溶出させた。

40℃以下で 1mL 以下に減圧濃縮をし、アセトン 5mL を加え、窒素ガスで乾固させ、アセトン：ヘキサン（1：1）混液 1mL で溶解し、GC/MS 試験液とした。

3 添加回収試験

1) 穀類・豆類の場合

「2, 1)」において、試料 10g をブレンダーカップに採取した後、10ppm 標準混合溶液 A 及び B をそれぞれ 62.5μL 添加し、15 分間放置後、以下同様に操作した。

2) 果実・野菜の場合

「2, 2)」において、試料 20g をブレンダーカップに採取した後、10ppm 標準混合溶液 A 及び B をそれぞれ 125μL 添加し、15 分間放置後、以下同様に操作した。

4 分析条件

1) カラム：HP-5MS (内径 0.25mm, 長さ 30m, 膜厚 0.25μm)

2) カラム温度：70℃ (2min) → 25℃/min → 150℃ (0min) → 3℃/min → 200℃ (0min) → 8℃/min → 280℃ (5.5min) → 20℃/min → 300℃ (5min) (合計 44min)

3) 注入口温度：250℃

4) 検出器：280℃

5) キャリアガス：ヘリウム

6) 注入方法：スプリットレス

7) 注入量：2μL

8) 注入順番：検体と標準品を交互に注入

9) イオン化モード（電圧）：EI+ (70eV)

5 検量線の作成及び定量

ピーク面積による絶対検量線法で定量した。ジフェノコナゾールについては 2 つのピーク面積の合計により検量線を作成し定量した。ジクロシメット、シハロトリン、ピテルタノール、ペルメトリン及びホスチアゼートについては、各異性体ごとに検量線を作成し、平均値又は面積百分率法により定量した。

結果

1 回収率70%未満の農産物・農薬の組み合わせ

53 農産物・118 農薬（異性体含む）の組み合わせ 6,254 組のうち、回収率が 70 % 未満であった農産物と農薬の組み合わせ 23 組を表 2 に示した。

表 2 回収率70%未満の農産物・農薬の組み合わせ一覧（平成18年度実施分）

農薬名	農産物名	回収率 (%)
イソプロカルブ	えだまめ	65.8
クロルプロファム	ぶどう	66.0
ジコホール	にんにく	65.8
ジコホール	ピーマン	65.4
スピロジクロフェン	オレンジ	24.6
スピロジクロフェン	レモン	11.7
ターバシル	みつば	59.5
テルブホス	ピーマン	62.4
トリフルラリン	ぶどう	59.6
ピラフルフェンエチル	ごぼう	63.7
ピラフルフェンエチル	なす	11.0
ピラフルフェンエチル	ばれいしょ	12.8
ピラフルフェンエチル	もも	61.5
ピリフェノックス (E)	ごぼう	42.2
ピリフェノックス (E)	なす	44.7
ピリフェノックス (E)	みつば	43.3
ピリフェノックス (E)	りんご	54.9
ピリフェノックス (Z)	ごぼう	45.1
ピリフェノックス (Z)	なす	39.8
ピリフェノックス (Z)	みつば	42.8
ピリフェノックス (Z)	りんご	55.9
ペンディメタリン	みつば	40.5
トリフルラリン	れんこん	68.6

1) 表 2 の 23 組を除く 6,231 組 (99.6 %) については回収率が 70 % 以上であった。

2) ピラフルフェンエチルについては、ごぼう、もも、ばれいしょ及びなすで 70 % を下回った。特に、ばれいしょ及びなすでは、ほとんど回収されなかった。

3) スピロジクロフェンについては、オレンジ及びレモンでそれぞれ 25 %、12 %と低かった。

4) ピリフェノックス (E 及び Z) については、2 異性体ともに、なす、りんご、ごぼう及びみつばで低い回収率 (40 ~ 56 %) であった。

2 みつばにおけるマトリックス効果

1) ブプロフェジン

定量イオン $m/z105^{1,2)}$ 及び定性イオン $m/z172^{1,2)}$ がマトリックスピークと重なり選択性が得られなかった。0.04ppm 検量線用標準溶液で $S/N \geq 10$ であった $m/z305$, $m/z249$ を、それぞれ定量イオン、定性イオンとしたところ、マトリックスの妨害がなくなり選択性が大幅に向上した。

2) ミクロブタニル及びホスチアゼート

検量線用標準溶液と添加回収試料の比較により、マトリックス系における保持時間の遅れがみられた。ホスチアゼートについては、併せてピークのブローディングがみられた。これら農薬ピークは、添加回収試料の SCAN 分析を行い、ライブラリとの一致を確認した。

考 察

1) 回収率が 70 %を下回った項目については、前処理行程や GC/MS 分析時の負のマトリックス効果³⁾が大きいと考えられるが、その要因を特定するには、さらに検討が必要である。

また、回収率の改善には、試験法の改良・開発が必要であり、今後の検討課題である。

2) みつばにおいては、ブプロフェジン、ミクロブタニル及びホスチアゼートとそれぞれ同じ保持時間に、みつば特有のマトリックスピークがみられることから、ガスクロマトグラフにおけるマトリックス・農薬の相互作用が大きいものと考えられる。

引用文献

1) 厚生労働省：分野別施策 [残留農薬] 食品に残留する農薬等の試験法 <分析法検討結果の詳細>

<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syok>

[u-anzen/zenryu3/index.html](http://www.mhlw.go.jp/topics/zenryu3/index.html) 2007/1/25

2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長。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。平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号。

3) ガスクロマトグラフィーにおけるマトリックス効果

<http://www5e.biglobe.ne.jp/~ytsumura/mainindex.html> 2007/1/10