

# LC-MS/MSによる農産物中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価について

徳島県立保健製薬環境センター

富永 智子・中村 哲也・堀見 朋代\*・長谷 良子

Validation on Simultaneous Analysis Method for Pesticide Residue in Agricultural Products by LC-MS/MS

Tomoko TOMINAGA, Tetsuya NAKAMURA, Tomoyo HORIMI and Ryoko HASE

Tokushima Prefectural Public Health, Pharmaceutical and Environmental Sciences Center

## 要 旨

高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析装置（以下「LC-MS/MS」という。）を用いた残留農薬検査について、検査対象項目を追加することとなった。これに伴い、令和3年度に農産物中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価を実施したため、結果を報告する。品目はかんしょ、キャベツ、ほうれんそう、すだちの4種とした。

Key words : 残留農薬 pesticide residue, 妥当性評価 validation, 液体クロマトグラフタンデム型質量分析装置 LC-MS/MS

## I はじめに

当センターでは、徳島県食品衛生監視指導計画に基づき、徳島県産の農産物（野菜、果実）及び輸入農産物加工品を中心に残留農薬検査を実施している。測定には、ガスクロマトグラフタンデム型質量分析装置（以下「GC-MS/MS」という。）及びLC-MS/MSを用いており、LC-MS/MSについては、これまで32項目の農薬（分析対象35化合物）<sup>1)</sup>を検査対象項目として設定していた。近年は、当県においても基準値超過事例<sup>2)</sup>が散見しており、残留農薬検査の必要性はますます高くなっている。よって、LC-MS/MSの検査対象項目を新たに追加することとなった。

食品中の残留農薬検査をはじめ、食品衛生法に定められている規格基準への適合性について判断を行う試験は、「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（平成22年12月24日付け食安発1224第1号）」（以下「ガイドライン」という。）により、妥当性を確認することとされている。

当センターではこれまで4種の農産物で妥当性評価を実施しており、今回の検査対象項目の追加に際して再評価が必要となったため、その実施結果を報告する。

\*現 東部保健福祉局 徳島保健所

## II 方法

### 1 試料

かんしょ、キャベツ、ほうれんそうについては、令和2年度から令和3年度にかけて徳島県内で買上され、行政検査に使用されたもの、すだちについては、職員が家庭栽培したものを使用した。

### 2 対象農薬

表1に示す108項目（測定機器がLC-MS/MSの72項目、GC-MS/MS及びLC-MS/MS共通の36項目）を妥当性評価の対象農薬とした。このうち、当センターにおけるLC-MS/MS測定の新規対象農薬として追加したものは下線部で示す76項目である。

### 3 試薬

#### (1) 標準品

過去に当センターで実施した妥当性評価では、GC-MS/MS及びLC-MS/MSともに同一の前処理操作を経て同時に分析している。互いの測定化合物による影響を考慮し、本検討においても、添加用標準液には測定機器がGC-MS/MSの84項目を加えた（表2）。

#### ① 農薬混合標準液

(LC-MS/MS) 54, 58, 78 (関東化学(株)製)

表1 本検討の対象農薬

測定機器 (検査対象項目数)	GC-MS/MS及びLC-MS/MS(共通)(36)		LC-MS/MS(72)		
農薬名	アセタミプリド	トリフルミゾール	アジンホスメチル	シクロエート	ピラクロストロピン
	アセフェート	トルフェンピラド	アニロホス	シフルフェナミド	ピラゾリネート
	アゾキシストロピン	バクロブトラゾール	アラニカルブ	ジフルベンズロン	ピリフタリド
	イソキサチオン	ピテルタノール	イソキサフルトール	シプロジニル	フェノキシカルブ
	イソプロカルブ	ピラクロホス	イプロバリカルブ	シメコナゾール	フェリムゾン
	イプロジオン	ピリダベン	イマザリル	ジメチリモール	フェンアミジン
	インドキサカルブ	ピリミカーブ	イミダクロプリド	ジメトモルフ	フェンピロキシメート
	エトキサゾール	ピリミホスメチル	インダノファン	シモキサニル	フェンヘキサミド
	カルバリル	フェノフカルブ	エボキシコナゾール	スピノサド	フェンメディファム
	クレソキシムメチル	ブプロフェジン	オキサジクロメホン	ダイムロン	ブタフェナシル
	クロルピリホス	フルシラゾール	オキサミル	チアクロプリド	フルスルファミド
	ジエトフェンカルブ	ベンシクロン	オキシカルボキシ	チアベンダゾール	フルフェノクスロン
	ジフェノコナゾール	ペンダイオカルブ	カルプロバミド	チアメキサム	フルリジン
	ジメトエート	マラチオン	クミルロン	チオジカルブ及びメソミル	プロバキサホップ
	シラフルオフェン	メタミドホス	クロキントセツトメキシル	テトラクロルピホス	ヘキサフルムロン
	テトラコナゾール	メチオカルブ	クロチアニジン	テブチウロン	ヘキシチアゾクス
	テブコナゾール	メチダチオン	クロフェンテジン	テブフェノジド	ペンゾフェナツブ
	トリアジメノール	メバニピリム	クロマフェノジド	テフルベンズロン	ボスカリド
			クロメプロップ	トリチコナゾール	メタベンズチアズロン
			クロリダゾン	トリデモルフ	メトキシフェノジド
		クローフルアズロン	トリフルムロン	モノリニユロン	
		クロロクスロン	ナプロアニリド	ラクトフェン	
		シアソファミド	ノバルロン	リニユロン	
		ジウロン	ピメロジン	ルフェヌロン	

\* 下線は当センターにおけるLC-MS/MS測定の新規対象農薬として追加した項目を示す。

表2 当センターにおける GC-MS/MS 測定対象農薬

測定機器 (検査対象項目数)	GC-MS/MS(84)				
農薬名	BHC	カブタホール	ジメチピン	ピフェントリン	プレチラクロール
	γ-BHC	キナルホス	ジメチルピホス	ピリフェノックス	プロシミドン
	DCIP	キノメチオネート	ダイアジノン	ピリプロキシフェン	プロチオホス
	EPN	キャプタン	チオベンカルブ	ピリミジフェン	プロピコナゾール
	EPTC	クローフェナビル	チオメトン	フェナリメル	ヘキサコナゾール
	アクリナトリン	クローフェンピホス	テニルクロール	フェントロチオン	ベルメトリン
	アラクロー	クロープロファミ	テブフェンピラド	フェノチオカルブ	ベンディメタリン
	イソフェンホス	クロータロニル	テフルトリン	フェンスルホチオン	ベンプレセート
	イミベンコナゾール	クローベンジレート	デルタメトリン及びトラロメトリン	フェンチオン	ホサロン
	エスプロカルブ	ジクロフェンチオン	テルブホス	フェントエート	ホスチアゼート
	エチオフェンカルブ	ジクロフルアニド	トリクロルホス	フェンバレレート	ホルベット
	エディフェンホス	ジクロルボス	トリシクラゾール	フェンプロバトリン	ミクロブタニル
	エトフェンブロックス	ジスルホトン	トリフルラリン	ブチレート	メトラクロール
	エトプロホス	シハロトリン	トルクロホスメチル	フルジオキソニル	メフェナセツ
	エトリムホス	シフルトリン	パラチオン	フルシトリネート	メプロニル
	オキサジキシル	シプロコナゾール	パラチオンメチル	フルトラニル	レナシル
	カズサホス	シベルメトリン	ハルフェンブロックス	フルバリネート	

(GC-MS/MS) 63, 79 (関東化学(株)製)

カラム温度: 40°C

② 農薬標準品

和光純薬工業(株)製, 関東化学(株)製, 林純薬工業(株)

移動相: A液 10 mM 酢酸アンモニウム水溶液,

B液 メタノール

製, Dr.Ehrenstorfer GmbH 社製

グラジエント組成 A:B : 95:5 (0 min) → (0.75 min) →  
80:20 → (2.25 min) → 55:45 → (19 min) → 2:98 (4 min) →  
(0.1 min) → 95:5 (5.9 min)

(2) 試薬等

既報<sup>2)</sup> のとおり使用した。

4 装置及び分析条件 (LC-MS/MS)

流速: 200 µL/min

① 装置

注入量: 1 µL

(HPLC部) ExionLC AC (SCIEX社製)

(MS部)

(MS部) QTRAP4500 (SCIEX社製)

イオン化法: ESI (+) / (-)

② 分析条件

測定モード: Scheduled MRM

(HPLC部)

イオンスプレー電圧: 5500 V (+) / 4500 V (-)

カラム: Inert Sustain AQ-C18 (2.1 mm I.D. × 100 mm,

Curtain Gas: 35 psi

粒子径 1.9 µm)

Collision Gas: 10 psi

Capillary Temperature : 450°C

Ion Source Gas1 : 60 psi

Ion Source Gas2 : 70 psi

## 5 検査方法

### (1) 標準溶液

標準原液は各農薬標準品をアセトン（一部化合物はメタノール）で 1,000 µg/mL となるように調製，混合標準溶液は各標準原液を混合し，アセトンで 10 µg/mL となるように調製した。

#### ① 検量線用標準液

LC-MS/MS 用農薬混合標準液と混合し，メタノールで適宜希釈して調製した（0.005, 0.01, 0.02, 0.05 µg/mL）。

#### ② 添加用標準液

各農薬混合標準液と混合して調製した。なお，農薬混合標準液で重複している 10 項目（アゾキシストロビン，インドキサカルブ，カルバリル，シラフルオフエン，ピリミカルブ，フェノブカルブ，ペンシクロン，ベンダイオカルブ，メチオカルブ，メパニピリム）は 2 倍量，アセタミプリド，アセフェート，メタミドホスは農薬混合標準液に 5 倍量含まれるため，理論値はこれに合わせて計算した。定量値が検量線を超過した場合は，試験液を希釈して再定量した。

### (2) 前処理

秋山らの手法<sup>3)</sup>を参考に，図 1 に示す方法で実施した。試料を秤量した後，標準液を添加し，30 分放置してから抽出工程を開始した。

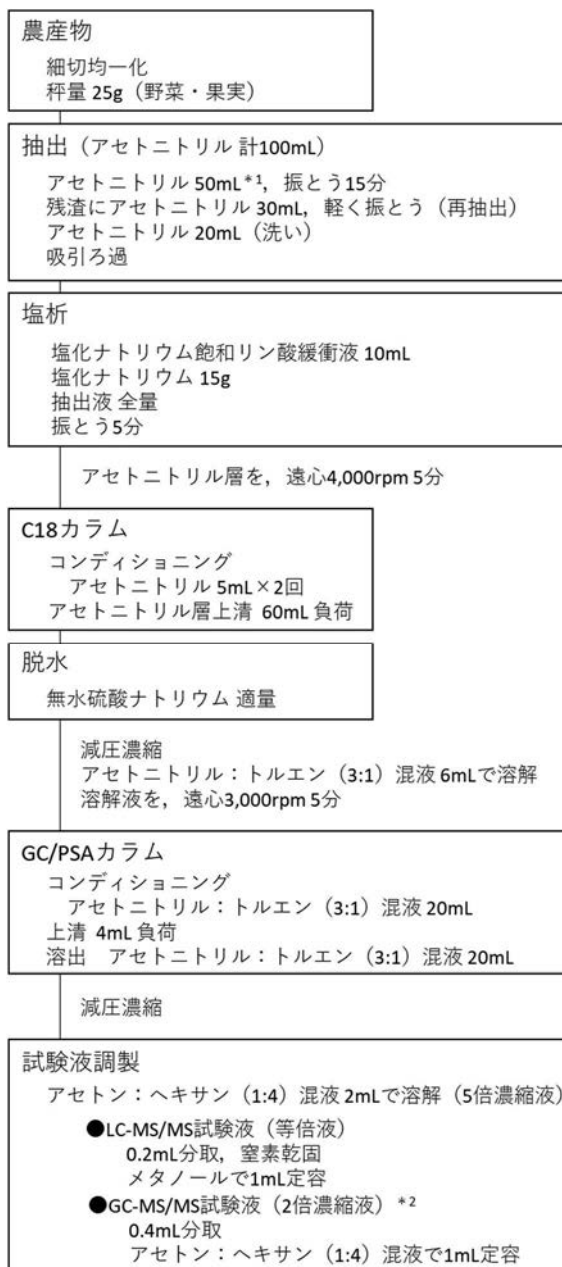
## 6 妥当性評価方法

実施者 3 名がそれぞれ添加試料を 1 日 1 回（2 併行），2 日間分析する枝分かれ実験計画に基づき，0.01 µg/g 及び 0.1 µg/g 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，真度，併行精度及び室内精度を評価した。真度，併行精度及び室内精度の目標値は表 3 のとおりである。なお，定量限界については，「基準値が定量限界と一致している場合あるいは農薬等の残留基準告示において「不検出」とされる場合」とされているため，各品目の基準値を確認し，当センターにおける該当項目がないことを確認した。

表 3 真度，併行精度及び室内精度の目標値

濃度 (µg/g(ppm))	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
0.01	70-120	< 25	< 30
0.1	70-120	< 15	< 20

評価の判定は，基準値に近い添加濃度における各目標値，当センターの標準作業書の要求事項（検量線及び保持時間）を全て満たすものを適合とした。なお，測定が positive モード，negative モード共にある化合物については，いずれかを満たした場合は，適合とみなした。



\*1 柑橘類の場合，酢酸ナトリウムで pH を 7 に調整。

\*2 本検討では実施していないが，通常の行政検査フローとして参考までに記載した。

図 1 前処理のフロー

## III 結果及び考察

### 1 選択性

全ての品目についてブランク試料を測定したところ，各対象農薬の定量を妨害するピークは見られなかった。

### 2 真度及び精度

各農産物における真度，併行精度及び室内精度を表 4 から 7 に示す。

添加濃度ごとの真度を比較すると，すだち及びキャベツは両濃度間で 10%以上の差がある化合物が複数認められ，0.01 µg/g の方が低くなる傾向にある。この理由として，0.01 µg/g

の等倍試験液は希釈の必要がないため、LC-MS/MS 測定ではあるものの、マトリックス効果による影響があったと考えられる。特に柑橘類のすだちは、抽出時に pH を調整しているが、試料中の pH が強い酸性を示すこと<sup>4)</sup>、LC-MS/MS による柑橘類の残留農薬測定におけるイオン化抑制について報告<sup>5)</sup>されていることから、LC-MS/MS 測定において真度に大きく影響を及ぼしたと考えられる。

### 3 標準作業書の要求事項（検量線及び保持時間）

全ての品目及び対象農薬について、良好な検量線を得ることができた。また、標準液と添加試料中の測定化合物の保持時間に大きな差異が認められないことを確認した。

### 4 判定

基準値に近い添加濃度における各評価基準の目標値から判定したところ、かんしょは95項目、キャベツは98項目、ほうれんそうは95項目、すだちは90項目が適合した。

全4品目において不適合となったのは、アセフェート、アラニカルブ、イソキサフルトール、オキシカルボキシン、クロロフルアズロン、ピラゾリネート、フェンヘキサミドの7項目であった。

## IV まとめ

過去に当センターで実施した4品目の農産物について、ガイドラインに従い、LC-MS/MS の検査対象項目の追加に伴う妥当性の再評価を実施した。対象農薬108項目のうち、かん

しょ及びほうれんそうは95項目、キャベツは98項目、すだちは90項目が適合した。LC-MS/MS の検査対象項目を大幅に拡充することができたため、行政検査への適用にあたりスクリーニング体制の強化に繋がったと言える。

今後もさらに農産物（野菜、果実）を細分化して評価する必要があるため、他の品目についても引き続き妥当性評価を進めていきたい。

## 参考文献

- 1) 中村哲也, 富永智子, 岩佐智佳: 残留農薬検査における液体クロマトグラム・タンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) の感度変動事例について, 徳島県立保健製薬環境センター年報, **9**, 20-25 (2019)
- 2) 富永智子, 中村哲也, 吉田理恵, 他: 徳島県における残留農薬検査結果: 平成 29 年, 30 年度に実施した農産物について, 徳島県立保健製薬環境センター年報, **9**, 26-31 (2019)
- 3) 秋山由美, 矢野美穂, 三橋隆夫, 他: 固相抽出法を用いた農産物中残留農薬の GC/MS による多成分一斉分析, 食品衛生学雑誌, **37** (6), 351-362 (1996)
- 4) 遠藤千鶴: スダチ搾汁後の果汁および果皮成分の経時的変化, 調理科学, **24** (3), 228-232 (1991)
- 5) 山辺真一, 肥塚加奈江, 山本淳, 他: LC/MS/MS による柑橘類中の残留農薬測定におけるイオン化抑制, 岡山県環境保健センター年報, **30**, 123-126 (2006)







