

サロゲート物質を用いた GC/MS による食品中の 有機リン系農薬分析法の検討

福田 裕^{*1} 中島 三恵 佐々木珠生 宮野 高光
吉清 武史 山名 正史 末田 義博 田辺 清勝
松井 俊治^{*2}

食品による健康被害の発生また苦情等に迅速に対応するため、既報において有機リン系農薬一斉分析法、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）によるスクリーニング法、ガスクロマトグラフ-質量分析法（GC/MS）による残留農薬スクリーニング法の検討を行った。今回、有機リン系農薬の分析精度の向上を目的とし、クロルピリホス及びフェニトロチオンの安定同位体（サロゲート物質）を内標準とした GC/MS 分析法の検討を行った。繰り返し精度、検量線、試料試験液への標準液添加での再現性においていずれも良好な結果となった。他の4種リン系農薬への適用も検討したところ、回収率、相対標準偏差に精度の向上が認められた。

キーワード： 有機リン系農薬，食品，サロゲート物質，ガスクロマトグラフ-質量分析装置

はじめに

近年，輸入野菜の残留農薬問題，また国内においては農薬の使用基準違反等，食の安全を脅かす事例が多発している。食品に関する話題は直接的に健康を損なう恐れがあるため，社会的問題となりやすい。そのため，データの信頼性の確保は分析機関の重要な課題である。

当所においては，健康危機管理体制の整備の一環として食品中の残留農薬分析法を既報¹⁾⁻³⁾において報告しているが，今回，食品中の有機リン系農薬の分析精度の向上を目的に，安定同位体（サロゲート物質）を内標準としたガスクロマトグラフ-質量分析法（GC/MS）の検討を行ったので報告する。

方 法

1 試料

添加回収実験用試料としてにんじん及びほうれんそうを使用した。

2 試薬

農薬混合標準液（ダイアジノン，フェニトロチオン，クロルピリホス，キナルホス，プロチオホス，EPN）：関東化学（株）

クロルピリホス-d10：林純薬工業（株）

フェニトロチオン-d6：林純薬工業（株）

サロゲート標準液：クロルピリホス-d10及びフェニトロチオン-d6標準品を少量のアセトンで溶かした後，ヘキサンをを用いて各濃度 1.0 µg/ml になるように調製した。

3 装置

ガスクロマトグラフ-質量分析装置（GC/MS）

：島津製作所（株）QP-5000

4 キャピラリーカラム

J&W社 DB-5ms

（0.25mm φ × 30m 膜厚 0.25 µm）

5 GC/MS 分析条件

気化室温度：290

カラム槽：初期温度 50 （保持時間 2min）

温度プログラム

レート（ /min ） 温度（ ） 時間（ min ）

20 120 0

7 290 0

インターフェース温度：300

フローコントローラ：スプリットレス

初期キャリアガス圧力 68kPa（保持時間 2min）

圧力プログラム

レート（ kPa/min ） 圧力（ kPa ） 時間（ min ）

3 150 6.7

サンプリング時間：2min

*1：現 下水道局管理課

*2：現 （財）広島市産業振興センター

モニターイオン (m/z):

ダイアジノン 304, フェニトロチオン 277,
クロルピリホス 314, キナルホス 157,
プロチオホス 309, EPN 157,
フェニトロチオン-d6 283,
クロルピリホス-d10 324

6 固相カラム

Sep-Pak Plus Florisil (ウォーターズ社製)

アセトン 20ml 及びヘキサン 5ml でコンディショニングした。

7 分析方法

細切した試料 10g にサロゲート標準液 2ml, 塩化ナトリウム 5g 及びアセトニトリル 30ml 添加し, 10 分間振とうを行った。その後毎分 2700 回転(10 分間)で遠心分離を行い, アセトニトリル層を分取した。残留物にアセトニトリル 10ml 加え, 同様の操作を行い, アセトニトリル層を合わせ, 1 ~ 2ml まで濃縮を行った。分液ロートに濃縮液, 酢酸エチル・ヘキサン (1:1) 30ml 及びアセトニトリル飽和 20% 塩化ナトリウム溶液 30ml を加え, 軽く攪拌を行った。静置後, 有機層を分取し, 無水硫酸ナトリウムで脱水を行った。その液を約 1 ml まで濃縮し, 固相カラムに負荷した。アセトン・ヘキサン (3:7) 20ml によって溶出し, 濃縮後ヘキサンで 2ml に定容した。その試験液 2 μ l を GC/MS に注入し, 内標準法により定量を行った。分析方法のフローチャートを図 1 に示した。

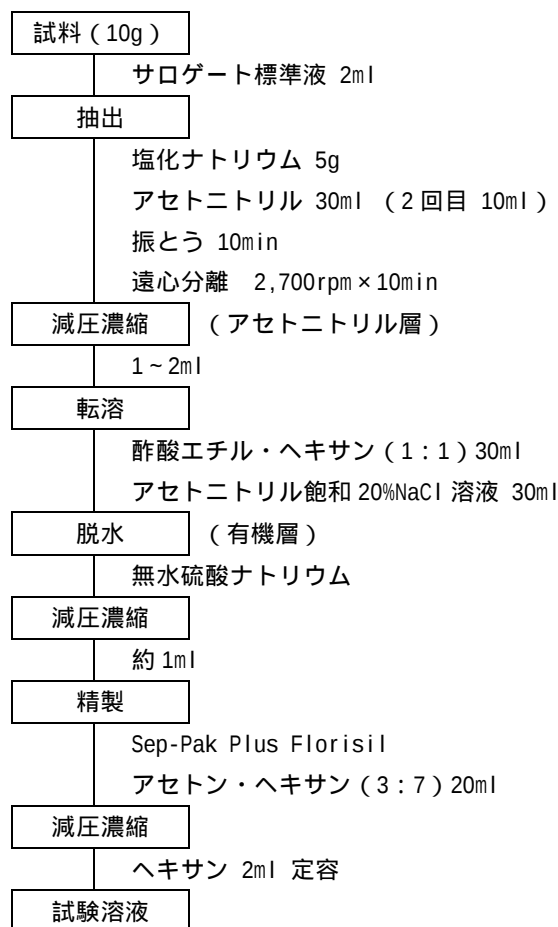
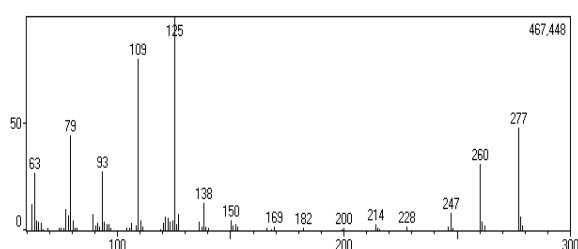
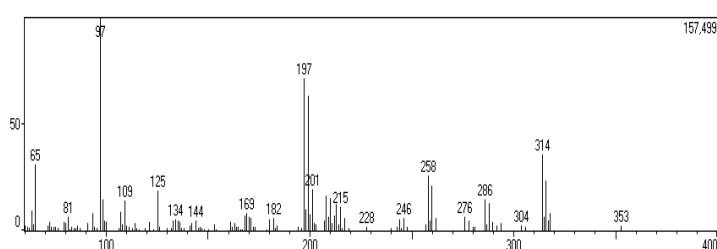


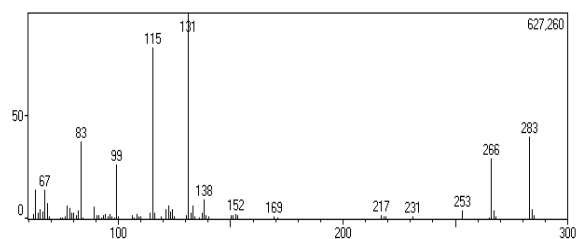
図 1 分析方法のフローチャート



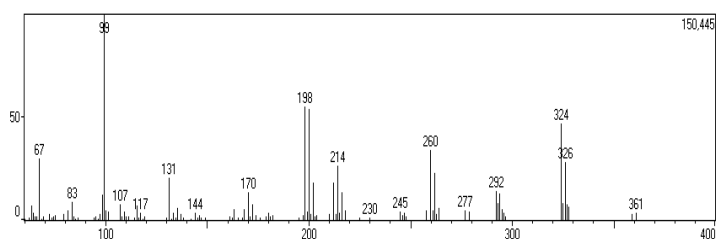
フェニトロチオン



クロルピリホス



フェニトロチオン-d6



クロルピリホス-d10

図 2 標準品のマスペクトル

結果と考察

1 モニターイオンの設定

GC/MS 分析のモニターイオンの設定を行うため、各農薬のマススペクトルを測定し、感度及びピークの分離について検討した。フェニトロチオン及びそのd体、クロルピリホス及びそのd体のマススペクトルを図2に示した。

分析方法に示したモニターイオンは各農薬及びd体ともピークが重複することなく、感度的にも問題なかった。

2 GC/MS における繰り返し精度

MS 検出器は、他の検出器に比べ試料成分の影響を受けにくい反面、定量・再現性に乏しいと言われている。サロゲート物質による内標準法を用いることで精度の向上が図れることを確認するため、標準液（各 1.0 $\mu\text{g/ml}$ ）を用いて 12 回連続分析（10 時間）を行った。その結果を図3に示した。

フェニトロチオンの相対標準偏差(RSD)は内標準による補正前では 2.28 であったが、補正後では 0.63 と精度の向上が見られた。同様にクロルピリホスでは 1.88 が 1.77 と良好な結果であった。

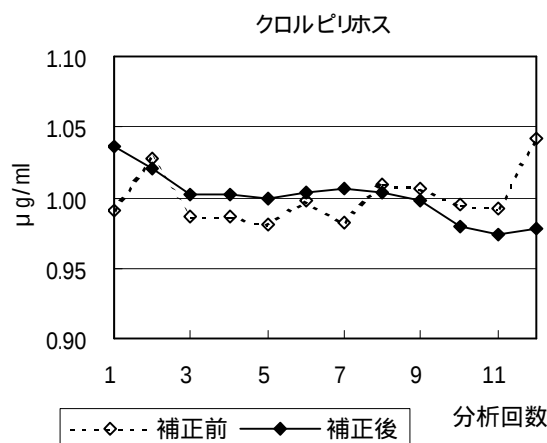
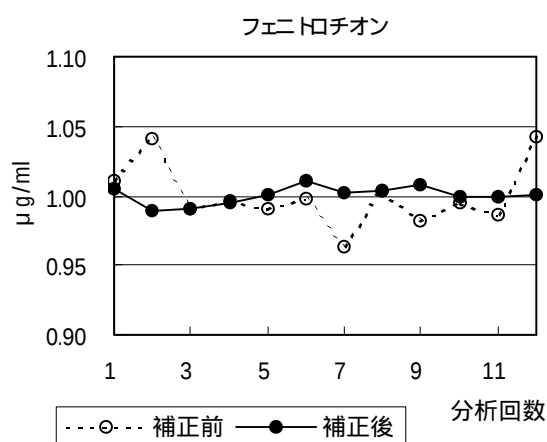


図3 繰り返し精度の比較

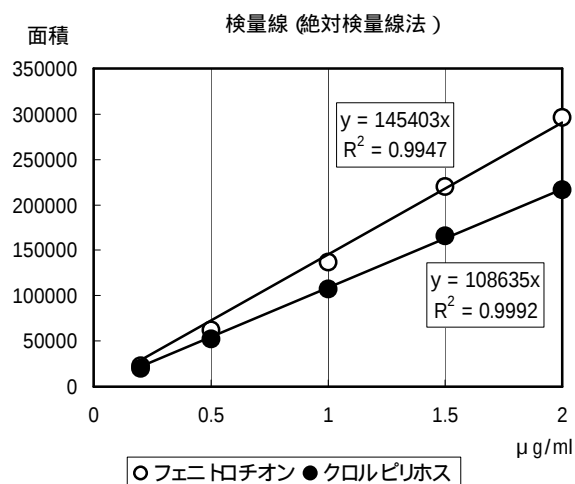
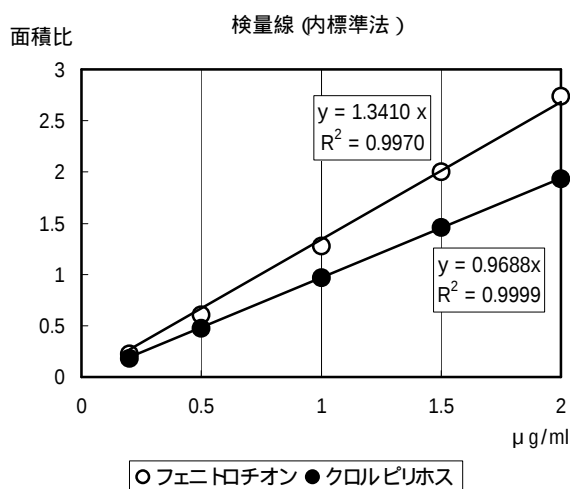


図4 検量線

3 検量線

絶対検量線法及び内標準法の精度を比較するため 0.2 ~ 2.0 $\mu\text{g/ml}$ の範囲でフェニトロチオン及びクロルピリホスの両法の検量線を作成し、検討した。その結果を図4に示した。

両者とも両法の検量線の直線性はよかったが、内標準法の方が寄与率(R^2)が高かった。

4 試料試験液への標準液添加での再現性

食品を試料として分析する際、機器分析結果に試料由来のマトリックスの影響を受けることがある。そこで、にんじん及びほうれんそうを用いて分析方法により得た試験液の中に各 1.0 $\mu\text{g/ml}$ となるよう標準液を添加し、分析データの再現性 ($n=5$) について検討した。その結果を表1に示した。

にんじん試験液ではフェニトロチオンの相対標準偏差は内標準による補正前では 4.22 であったが、補正後では 1.89 と精度の向上が見られた。

表 1 試料試験液への標準液添加での再現性

農 薬	内標準による 補正	にんじん		ほうれんそう	
		平均値(μg/ml)	RSD (n=5)	平均値(μg/ml)	RSD (n=5)
フェニトロチオン	補正前	1.04	4.22	1.03	2.76
	補正後	0.94	1.89	0.93	0.60
クロルピリホス	補正前	1.03	2.11	1.00	1.49
	補正後	0.98	2.43	0.94	0.74

表 2 添加回収実験結果

農 薬	添加量*	にんじん		ほうれんそう	
		平均回収率 (%)	RSD (n=3)	平均回収率 (%)	RSD (n=3)
フェニトロチオン	2 μg (0.2ppm)	92.7	0.78	96.2	1.07
	0.1 μg (0.01ppm)	-	-	98.8	1.74
クロルピリホス	2 μg (0.2ppm)	96.0	0.53	96.5	0.58
	0.1 μg (0.01ppm)	-	-	108	0.93

* : ()内は試料中濃度

表 3 平成 15 年度外部精度管理結果

農 薬	検査報告値 (μg/g)					平均 (μg/g)	RSD	添加量 (μg/g)	平均回収 率(%)
	1	2	3	4	5				
フェニトロチオン	0.138	0.137	0.138	0.143	0.142	0.140	1.94	0.15	93.3
クロルピリホス	0.225	0.224	0.225	0.246	0.230	0.230	4.02	0.25	92.0

ほうれんそう試験液ではフェニトロチオンの RSD は内標準による補正前では 2.76 であったが、補正後では 0.60 と精度の向上が見られた。同様にクロルピリホスでは 1.49 が 0.74 と良好な結果であった。

5 添加回収実験

にんじん及びほうれんそうに、試験溶液の濃度が 1.0 μg/ml となるよう各標準液を添加し、本法による添加回収実験(n=3)を行った。その結果を表 2 に示した。

にんじんでの平均回収率はフェニトロチオン 92.7% ,RSD 0.78 及びクロルピリホス 96.0% ,0.53 であった。また、ほうれんそうでの平均回収率はフェニトロチオン 96.2% ,RSD 1.07 及びクロルピリホス 96.5% ,0.58 であった。両者とも良好な結果であった。

6 定量下限での添加回収実験

ほうれんそうのクロルピリホスの残留基準値は 0.01ppm と通常の分析での定量下限値である。定量下限値付近での分析においても十分な信頼性を得る必要があり、本法での信頼性の確認のためほ

うれんそうに 0.01ppm となるよう標準液を添加し、添加回収実験(n=3)を行った。その結果を表 2 に示した。

フェニトロチオンの平均回収率は 98.8% ,RSD 1.74 及びクロルピリホス 108% ,0.93 であった。本法は定量下限値においても十分に信頼性が高いと考えられる。

7 外部精度管理

本法を用いて平成 15 年度外部精度管理(にんじんペースト中のフェニトロチオン及びクロルピリホスの定量)を行った。その結果を表 3 に示した。回収率及び再現性ともに良好な結果であった。

8 他のリン系農薬

現在、農薬の安定同位体の数は少なく、また高価である。今回、同一分析条件下で他の 4 農薬(ダイアジノン、キナルホス、プロチオホス、EPN)についてフェニトロチオン-d6、クロルピリホス-d10 での補正効果について検証した。

にんじん及びほうれんそうの添加回収実験結果を表 4 に示した。添加量は 5 添加回収実験のとりとした。

ほうれんそうに添加したプロチオホス及び EPN をフェニトロチオン-d6 で補正した場合，内標準補正前に比べ若干精度が低下したが，その他の農薬については回収率，RSD に精度の向上が認められた。

サロゲート物質を用いた内標準法は分析操作中での挙動が分析対象農薬とほぼ同じであり，分析操作での損失の補正，あるいは誤操作の有無の確認等，信頼性を高める上で効果的な方法と考えられる。

文 献

- 1) 福田裕 他：食品中の有機リン系農薬 56 種の迅速一斉分析法，広島市衛研年報，20，38～42(2001)
- 2) 中島三恵 他：残留農薬スクリーニング法における HPLC 分析条件の検討，広島市衛研年報，21，36～40(2002)
- 3) 福田裕 他：GC/MS による食品中の残留農薬スクリーニング法の検討，広島市衛研年報，22，33～39(2003)

表 4 他のリン系農薬の添加回収実験結果

農 薬	内標準による補正	にんじん		ほうれんそう	
		平均回収率(%)	RSD (n=3)	平均回収率(%)	RSD (n=3)
ダイアジノン	補正前	106	5.43	100	2.12
	フェニトロチオン-d6 補正	100	1.06	107	1.84
	知比° リス-d10 補正	102	0.75	102	1.37
キナルホス	補正前	104	4.13	96.6	1.49
	フェニトロチオン-d6 補正	98.1	0.89	103	1.39
	知比° リス-d10 補正	99.6	1.21	98.7	0.93
プロチオホス	補正前	103	4.26	97.5	1.55
	フェニトロチオン-d6 補正	97.3	0.67	104	1.79
	知比° リス-d10 補正	98.8	0.92	99.6	0.71
EPN	補正前	116	4.94	94.9	1.55
	フェニトロチオン-d6 補正	109	1.25	101	2.32
	知比° リス-d10 補正	111	2.03	96.9	0.42