

LC/MS/MS 法による農産物中残留農薬一斉分析法の妥当性評価 (第 2 報)

金行 良隆 佐々木 珠生 松室 信宏 光野 幸一*

農産物のうち、キャベツ、あまなつ、りんごについて、LC/MS/MS 法による残留農薬一斉分析法の妥当性評価を行った。「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、当所で検査している LC/MS/MS 項目について、添加濃度 0.01 μ g/g および 0.1 μ g/g の 2 濃度により妥当性評価を行ったところ、キャベツが 54 項目、あまなつが 44 項目、りんごが 60 項目について検査可能であった。

キーワード：LC/MS/MS, 残留農薬, 妥当性評価

はじめに

当所では農畜水産物中の残留農薬や動物用医薬品等の試験を行っており、分析法の改良や精度管理にも精力的に取り組んでいる¹⁻⁴⁾ところであるが、平成 22 年に出された厚生労働省通知⁵⁾により、これらの試験方法について、妥当性評価を行う必要が生じた。これを受けて平成 25 年 12 月 13 日以降は、妥当性評価が完了していない試験方法による結果を正式な結果とすることはできないため、当所でも対応しているところである。

このたび、キャベツ、あまなつ、りんごについて残留農薬(LC/MS/MS 項目)の妥当性評価を行ったので報告する。

方 法

1 妥当性評価対象試料

「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」⁶⁾(以下「ガイドライン」と称する。)において、代表的な農作物として例示されているキャベツ、オレンジ、りんごを妥当性評価対象試料とする予定であったが、オレンジは適切なブランク試料が入手できなかったため、かんきつ類を代表する農作物としてあまなつを使用した。

添加回収試験の方法は既報⁴⁾のとおり。

2 試薬

既報⁴⁾のとおり。

3 装置

既報⁴⁾のとおり。

4 測定条件

ほぼ既報⁴⁾のとおりであるが、流速について、機器の耐圧性の観点から 0.18ml/min へと修正を行った。

また、あまなつとりんごの妥当性評価にはアゾキシストロビンを評価対象項目に加えた。アゾキシストロビンの MS/MS 条件は以下のとおり。

- ・ピリオド: ポジ 1-1, 保持時間: 14.1 分
- ・Q1 (m/z): 404
- ・定量条件
Q3 (m/z): 372, DP: 36, CE: 19, CXP: 26
- ・定性条件
Q3 (m/z): 344, DP: 36, CE: 35, CXP: 24

5 試験溶液の調製

ほぼ既報⁴⁾のとおりであるが、試験法の改良を検討した結果、以下の 2 点について修正を行った。

- (1) ENVI™-Carb II/PSA カラムを用いてアセトニトリルトルエン(3:1)混液で溶出する際、溶出量を 30ml から 15ml に修正した。
- (2) 果実(今回はあまなつとりんごが該当)については、塩化ナトリウムを添加した後、硫酸マグネシウムを添加する前に、クエン酸三ナトリウム 2 水和物 1g とクエン酸二ナトリウム 1.5 水和物 0.5g を添加することとした。

6 検量線の作成

既報⁴⁾のとおり。

7 枝分かれ試験

既報⁴⁾のとおり。

結 果 と 考 察

今回の検討において、選択性および定量限界については、ガイドラインで示されている要件を満

*: 退職

足した。それぞれの対象試料の真度および精度について以下に示す。

1 キャベツ

ガイドラインにおける真度(回収率)の目標値は、延べ 10 回の測定値の平均で 70~120%である。また、併行精度および室内精度の目標値は、添加濃度 0.1 $\mu\text{g/g}$ の場合が併行精度 15%未満および室内精度 20%未満であり、添加濃度 0.01 $\mu\text{g/g}$ の場合が併行精度 25%未満および室内精度 30%未満である。

ブランク試料に 0.01 $\mu\text{g/g}$ および 0.1 $\mu\text{g/g}$ となるように混合標準液を添加し、それぞれの延べ 10 回の試験の平均回収率を求めた。また、表計算ソフトにより一元配置分散分析による解析を行い、併行精度および室内精度を算出した。表 1 にその結果を示す。

チオジカルブはメソミルに代謝されることから、チオジカルブおよびメソミルは 1 項目として扱い、検討した計 63 項目のうち、54 項目で目標値を満足した。

2 あまなつ

アズキシストロピンを加えてそれまでと同様に測定したところ、64 項目のうち 40 項目が回収率で 70~120%を満足できなかった。かんきつ類はイオン化抑制が起こりやすいため、多数の項目で回収率が大幅に下がったものと考えられる。このため、検査可能項目数の増加を目的として試験方法の改良を試みた。方法としては、塩化ナトリウムと硫酸マグネシウム添加時のクエン酸塩の追加添加および精製時の C18 カラム使用の 2 方法を検討した⁷⁾。

その結果、C18 カラム使用では思わしい結果が得られなかったが、クエン酸塩の添加では改善が見られたため、果実類についてこの手法を採用することとした。

あまなつの真度および精度の算出結果を表 2 に示す。表中の横線(-)は、真度 0 の試料があったため精度が計算不能であったことを示す。既報⁴⁾と同様に、基準値が 0.1 $\mu\text{g/g}$ 以上の項目については、添加濃度 0.1 $\mu\text{g/g}$ での目標値を満足した場合は検査可能とした。この結果、検討した 64 項目のうち 44 項目で検査可能という結果が得られた。

3 りんご

りんごについては、検討項目すべてを含まないブランク試料を入手することができなかったため、

ボスカリドについてはブランク値を差し引いて評価を行った。その結果、添加濃度 0.01 $\mu\text{g/g}$ では併行精度および室内精度の目標値を満足することができなかったが、添加濃度 0.1 $\mu\text{g/g}$ で真度および精度の目標値を満足することができた。

りんごの真度および精度の算出結果を表 3 に示す。あまなつと同様に評価を行った結果、64 項目のうち 60 項目で検査可能という結果が得られた。

ま と め

キャベツ、あまなつおよびりんごについて、LC/MS/MS 項目 64 農薬の妥当性評価を行ったところ、キャベツで 54 項目、あまなつで 44 項目、りんごで 60 項目が検査可能であった。

代表的作物とされる 5 種の農産物で、LC/MS/MS 項目の評価がひととおり終了したため、今後は当所で検査を行う未評価品目の妥当性評価を行っていく予定である。

文 献

- 1) 生活科学部：LC/MS/MS による農作物中の残留農薬の一斉分析法の検討，広島市衛生研究所年報，26，67~72(2007)
- 2) 生活科学部：GC/MS/MS による農作物中の残留農薬の一斉分析法の検討，広島市衛生研究所年報，27，51~55(2008)
- 3) 生活科学部：LC/MS/MS による農作物中の残留農薬の一斉分析法の検討(その 2)，広島市衛生研究所年報，28，54~61(2009)
- 4) 金行良隆 他：LC/MS/MS 法による農産物中残留農薬一斉分析法の妥当性評価，広島市衛生研究所年報，32，35~39(2013)
- 5) 厚生労働省通知，食安発 1224 第 1 号，平成 22 年 12 月 24 日
- 6) 厚生労働省通知，食安発 1115001 号，平成 19 年 11 月 15 日
- 7) 高取 聡 他：LC-MS/MS を用いた迅速な野菜類および果実類中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価，食品衛生学雑誌，Vol. 54(3)，237~249(2013)

表1 キャベツの真度(回収率)および精度の結果

農薬名	添加濃度0.01μg/g			添加濃度0.1μg/g		
	回収率(%)	併行精度(%)	室内精度(%)	回収率(%)	併行精度(%)	室内精度(%)
チアマトキサム	22.1	10.1	52.5	31.1	7.4	14.4
イミダクロブ リト	34.3	9.1	17.9	53.5	4.8	5.1
クロチアニジン	14.8	28.7	73.4	40.4	4.1	13.1
クロリダゾン	79.3	2.6	8.6	86.0	2.0	3.7
オキシカルボキシ	71.1	6.2	8.3	75.2	5.3	5.3
チアクロブ リト	75.2	2.0	11.5	80.9	2.2	2.8
チアベンタゾール	92.8	6.3	6.3	91.8	4.6	4.6
アサメチホス	88.3	4.1	5.3	84.0	3.6	5.7
シメチリモール	76.4	4.5	12.5	80.3	1.7	5.0
フラメピル	94.9	2.6	4.8	95.1	3.3	6.3
イソキサフルトール	83.7	4.7	8.9	84.9	5.3	6.5
フェンメチイファム	91.8	2.2	3.3	90.9	3.5	3.9
アジンホスメチル	88.5	8.0	11.0	95.9	7.1	8.0
ヒリフタリト	97.7	4.4	6.9	95.0	3.5	3.6
フェリムゾン	98.7	3.9	5.1	95.7	4.5	5.2
クロマフェノジト	99.5	3.2	6.9	96.5	3.5	4.3
イプロバリカルブ	97.3	3.0	5.3	95.4	2.7	3.6
クミロン	95.0	2.8	6.2	92.4	3.9	5.1
ブタフェナシル	96.7	3.6	5.3	93.7	3.5	3.5
シメコナゾール	91.9	3.1	7.4	94.0	1.4	2.2
シアゾファミト	92.6	2.0	2.6	92.5	2.2	5.9
フェノキシカルブ	98.1	2.9	4.7	94.6	3.8	3.9
アニコホス	97.3	2.3	5.3	96.7	3.9	4.2
シフルフェナミト	94.1	3.4	3.4	92.2	2.6	3.5
ピラゾリネート	60.3	18.1	18.7	62.3	9.4	16.1
イントキサカルブ	99.4	3.6	5.9	93.3	5.1	7.0
ベンゾフェナップ	98.3	3.3	5.4	93.9	4.6	5.1
キサロホップ-p-テフリル	59.7	6.3	12.2	60.3	6.0	10.5
フラチオカルブ	89.8	1.6	1.6	86.7	4.7	4.7
ラクトフェン	86.4	5.5	6.2	89.2	3.4	3.5
クロメフロップ	88.0	6.1	6.1	94.8	3.1	3.3
オキサジクロメホン	96.2	4.2	4.2	97.5	4.4	5.1
キサロホップエチル	91.3	4.9	5.2	95.7	3.5	4.1
ペンチキサゾン	90.7	11.5	11.5	93.2	7.7	9.0
クロキントセットメキシル	98.3	4.2	4.2	95.0	2.7	2.7
ホスカリト1	95.3	1.6	5.2	95.5	4.1	4.1
トリテモルフ1	97.9	8.0	11.7	95.1	3.5	8.2
トリテモルフ2	96.5	11.0	11.0	93.5	3.4	6.0
オキサミル	79.1	3.0	3.3	86.3	3.0	3.3
メソミル	120.5	2.1	8.4	119.9	3.3	8.0
アセタミフ リト	89.0	3.3	4.0	93.6	2.5	3.3
アルジカルブ	92.4	3.2	7.0	91.3	3.2	4.4
MTMC	106.0	11.6	11.9	97.5	8.6	14.3
PHC	94.0	3.1	3.2	95.6	2.5	3.5
アミノカルブ	93.6	3.5	6.7	91.5	4.9	4.9
ベンタイオカルブ	94.5	2.5	3.8	95.5	2.2	2.4
カルボフラン	109.5	1.9	6.8	104.7	2.2	3.0
カルハリル	93.0	3.6	4.0	95.0	2.1	3.6
MPMC	96.3	2.8	3.2	94.9	3.1	3.1
XMC	95.4	4.2	4.2	92.7	3.6	3.6
エチオフェンカルブ	81.9	5.0	7.2	81.7	2.3	5.9
チオシカルブ	34.3	4.6	36.5	42.1	4.7	25.4
イソプロカルブ	95.5	2.3	2.3	93.5	2.5	3.3
フェノフカルブ	95.2	2.0	3.8	93.5	2.6	2.7
メチオカルブ	89.6	2.9	3.2	93.3	4.0	4.1
ホスカリト2	90.0	3.0	5.0	95.6	4.2	4.5
トリフルミゾール	86.2	4.4	6.4	87.3	5.3	5.3
フェンヒロキシメートZ	66.3	5.2	7.9	78.8	5.2	8.1
フルフェノクスロン	83.6	8.5	24.6	65.2	8.6	19.8
フェンヒロキシメートE	67.5	8.9	11.5	74.5	8.0	11.6
ヘキシチアゾクス	61.2	6.6	11.5	61.1	9.3	17.7
メハニピリム	83.9	7.5	11.8	98.6	1.9	6.0
ヒリミカルブ	95.1	2.2	4.3	96.1	2.9	3.5
トラルコキシジム1	19.4	27.6	27.6	14.1	9.8	35.0
トラルコキシジム2	20.6	23.2	41.7	21.4	13.9	47.6
メトキシフェノジト	87.5	0.8	3.6	91.2	3.9	3.9
オリサリン	83.6	4.1	5.5	91.6	3.8	4.8
ナプロアニト	90.8	3.3	3.8	93.4	3.3	4.4
メソミル・チオシカルブの平均	77.4	1.4	4.6	81.0	2.6	2.6

表2 あまなつの真度(回収率)および精度の結果

農薬名	添加濃度0.01μg/g			添加濃度0.1μg/g		
	回収率(%)	併行精度(%)	室内精度(%)	回収率(%)	併行精度(%)	室内精度(%)
チアメトキサム	66.4	6.6	10.0	81.7	2.6	6.3
イミダクロプリト	64.7	10.2	11.4	82.0	4.0	7.4
クロチアニジン	56.5	9.8	21.1	81.0	4.6	11.0
クロリダゾン	83.9	5.0	7.7	85.2	2.4	2.8
オキシカルボキシ	63.4	9.0	17.4	75.0	5.2	8.0
チアクロプリト	76.0	16.9	16.9	86.1	6.1	6.1
チアベンダゾール	5.2	—	—	1.6	—	—
アサメチホス	14.9	29.3	48.3	28.0	6.5	17.9
シメチリモール	57.2	2.1	9.8	69.6	3.3	8.3
フラメトピール	66.4	6.5	7.3	72.3	5.2	8.3
イソキサフルトール	58.8	14.2	16.4	65.6	5.5	8.2
フェンメテイファム	76.0	3.5	7.0	80.5	2.2	4.3
アジノホスメチル	67.3	3.8	8.4	80.2	5.7	10.1
ヒリフタリト	85.4	5.0	5.2	89.0	3.7	4.6
フェリムゾン	75.2	3.6	10.3	82.9	3.4	3.4
クロマフェノジト	75.5	3.0	6.1	84.5	1.5	2.6
イプロバリカルブ	75.5	2.5	3.1	82.6	1.5	3.1
クミロン	43.3	3.8	12.2	61.7	4.7	5.6
ブタフェナシル	76.7	6.3	7.6	84.7	2.0	5.1
シメコナゾール	68.5	1.9	12.9	81.2	1.5	2.8
シアゾファミト	40.2	6.2	23.1	64.1	2.0	10.3
フェノキシカルブ	49.5	10.7	14.0	57.6	10.0	14.1
アエロホス	85.6	4.4	5.9	89.0	2.1	4.8
シフルフェナミト	77.4	4.7	7.9	81.0	1.5	4.8
ピラゾリネート	60.3	7.5	18.9	69.2	5.7	14.5
イントキサカルブ	89.8	9.8	9.8	89.4	4.6	7.2
ベンゾフェナップ	93.7	3.4	5.7	87.2	3.2	4.9
キサロホップ-p-テフリル	80.9	5.1	13.8	77.8	12.4	13.8
フラチオカルブ	94.5	2.9	6.4	90.8	2.4	4.0
ラクトフェン	89.9	5.4	8.7	87.4	2.5	4.2
クロメプロップ	48.3	11.0	38.6	51.7	21.9	30.5
オキサジクロメホン	96.3	1.8	4.2	91.4	1.7	3.9
キサロホップエチル	89.5	2.5	7.6	86.0	4.3	5.9
ヘンチキサゾン	90.4	11.1	11.5	89.6	5.0	5.7
クロキントセツメキシル	81.7	5.1	7.5	81.1	5.5	10.8
ホスカリト1	68.2	7.3	8.1	74.2	2.8	5.5
アゾキシストロビン	86.2	1.8	6.6	87.8	1.4	3.0
トリテモルフ1	76.4	8.2	34.3	85.3	2.8	4.5
トリテモルフ2	84.2	6.9	13.4	82.9	6.9	7.4
オキサミル	86.2	3.5	5.2	87.0	1.3	3.6
メソミル	89.0	4.3	6.0	91.1	2.7	3.6
アセタミプリト	87.5	5.3	5.8	91.7	2.1	4.2
アルジカルブ	86.1	3.4	7.0	88.9	3.3	4.5
MTMC	94.4	10.9	12.2	94.2	7.8	7.8
PHC	57.6	4.8	6.7	63.9	3.4	7.9
アミノカルブ	36.3	3.4	11.2	48.4	2.2	12.8
ベンダイオカルブ	35.8	4.4	14.3	49.2	3.2	9.9
カルボフラン	63.0	2.0	8.1	76.7	2.4	5.6
カルハリル	88.5	2.6	3.1	90.4	2.3	3.7
MPMC	91.6	2.2	2.7	90.8	1.6	2.4
XMC	94.6	4.7	5.7	93.5	2.2	3.3
エチオフェンカルブ	89.0	2.1	3.2	90.0	3.0	3.1
チオシカルブ	42.0	8.4	20.2	57.5	9.2	17.8
イソプロカルブ	87.6	2.5	5.9	89.6	2.6	3.7
フェノフカルブ	89.3	2.1	5.0	89.9	1.4	3.3
メチオカルブ	84.1	1.0	3.5	89.8	0.8	2.8
ホスカリト2	61.1	8.9	14.0	75.2	2.9	6.5
トリフルミゾール	81.8	4.1	5.2	88.4	1.5	4.6
フェンヒロキシメートZ	75.2	9.0	9.0	84.7	1.5	4.8
フルフェノクスロン	56.6	6.3	39.1	60.9	5.3	21.9
フェンヒロキシメートE	86.2	4.4	6.2	83.5	2.2	5.1
ヘキシチアゾクス	28.1	24.5	30.5	43.1	8.2	23.2
メバニピリム	17.1	56.1	56.1	36.6	20.7	20.7
ヒリミカルブ	67.7	3.3	9.0	75.2	4.1	7.0
トラルコキシジム1	0.0	—	—	6.5	—	—
トラルコキシジム2	0.0	—	—	14.0	—	—
メトキシフェノジト	73.4	3.8	9.6	86.6	1.1	6.9
オリサリン	63.4	2.7	10.9	74.8	1.9	3.4
ナプロアニリト	81.3	3.9	14.1	87.1	3.9	9.4
メソミル・チオシカルブの平均	65.5	3.4	7.3	74.3	4.8	8.4

表 3 りんごの真度(回収率)および精度の結果

農薬名	添加濃度0.01μg/g			添加濃度0.1μg/g		
	回収率(%)	併行精度(%)	室内精度(%)	回収率(%)	併行精度(%)	室内精度(%)
チアメトキサム	81.8	3.3	9.7	89.7	4.1	4.1
イミダクロプリト	90.9	4.4	8.8	93.7	4.3	5.1
クロチアニジン	89.6	9.0	14.1	92.8	4.7	4.7
クロリダゾン	86.7	5.5	10.5	90.3	4.7	6.0
オキシカルボキシ	74.0	5.8	8.3	79.6	5.0	6.0
チアクロプリト	87.7	2.4	7.1	92.4	3.6	4.3
チアベンダゾール	35.8	10.3	24.2	39.5	12.1	16.3
アザメチホス	79.2	4.6	8.6	82.5	6.0	6.0
シメチリモール	81.7	5.7	6.1	85.6	4.5	4.5
フラメトピル	92.7	2.6	4.8	90.7	4.7	5.5
イソキサフルトール	88.1	5.9	8.3	87.5	2.0	3.3
フェンメテイファム	86.5	2.5	7.1	87.5	3.2	3.2
アジンホスメチル	95.1	12.2	12.2	98.1	8.0	8.9
ヒリフタリト	90.8	7.1	8.9	93.2	6.0	6.0
フェリムゾン	89.2	2.5	7.8	89.6	4.5	4.5
クロマフェノジト	96.2	2.9	7.2	95.2	3.3	4.4
イプロバリカルブ	92.2	3.4	5.9	93.0	4.2	4.8
クミルロン	90.0	1.8	8.2	93.3	3.4	3.4
ブタフェナシル	93.2	3.4	9.6	96.2	4.6	4.6
シメコナゾール	88.0	7.5	14.9	91.2	5.0	5.0
シアゾファミト	100.5	5.3	14.8	107.8	5.3	11.1
フェノキシカルブ	100.0	2.5	8.9	95.1	4.5	4.5
アエロホス	94.7	1.9	7.9	93.9	4.7	5.6
シフルフェナミト	96.4	2.0	7.1	92.6	4.7	5.7
ピラゾリネート	76.1	4.5	9.1	75.8	9.1	9.1
イントキサカルブ	99.4	6.9	11.7	94.0	4.2	5.8
ベンゾフェナップ	98.2	2.8	7.5	92.5	4.2	5.3
キサロホップ-p-テフリル	64.7	9.6	28.4	61.7	11.1	23.7
フラチオカルブ	98.1	2.1	9.0	93.6	3.5	3.5
ラクトフェン	98.7	1.0	10.0	95.9	3.8	3.8
クロメプロップ	27.1	18.2	78.3	23.9	32.6	67.9
オキサシクロメホン	100.2	2.4	7.8	96.2	2.9	4.6
キサロホップエチル	91.4	3.9	12.0	87.8	4.9	9.4
ヘンチキサゾン	104.5	6.8	20.8	104.7	9.6	18.9
クロキントセツメキシル	83.2	2.5	10.1	83.7	4.3	6.8
ホスカリト1	92.6	45.6	45.6	92.5	10.7	10.7
アゾキリストロビン	91.1	2.4	7.4	93.0	3.5	3.5
トリテモルフ1	81.8	4.9	30.0	87.6	9.3	10.7
トリテモルフ2	88.6	6.1	8.4	82.4	9.5	9.5
オキサミル	93.8	1.7	4.1	94.4	3.6	3.6
メソミル	90.8	2.9	4.0	93.3	3.3	3.3
アセタミプリト	102.3	6.0	10.2	94.2	5.3	5.8
アルジカルブ	85.9	3.3	8.2	87.9	5.0	5.3
MTMC	108.5	7.1	10.5	105.9	7.9	7.9
PHC	90.9	2.4	5.7	92.1	5.3	5.3
アミノカルブ	86.3	3.5	6.3	87.7	2.5	2.5
ベンタイオカルブ	91.7	4.0	6.1	93.5	3.4	3.4
カルボフラン	118.4	3.4	5.5	118.2	1.7	2.7
カルハリル	90.3	1.7	3.6	92.2	5.6	5.6
MPMC	91.0	2.6	4.6	91.9	5.0	5.0
XMC	90.1	3.9	6.7	91.6	4.6	4.6
エチオフェンカルブ	82.4	4.3	4.3	84.3	2.2	3.4
チオシカルブ	87.8	3.2	7.3	92.6	3.8	6.1
イソプロカルブ	87.4	2.6	5.3	90.7	3.8	3.8
フェノプロカルブ	92.5	4.2	6.9	91.8	2.5	2.5
メチオカルブ	92.2	3.3	6.5	95.4	3.0	3.0
ホスカリト2	92.5	38.4	39.0	96.9	5.0	6.9
トリフルミゾール	84.6	2.2	7.2	89.2	5.1	5.8
フェンピロキシメートZ	86.5	7.5	7.5	96.4	6.0	7.1
フルフェノクスロン	92.6	7.2	12.3	92.6	6.8	7.9
フェンピロキシメートE	87.3	2.4	10.0	89.6	3.4	5.1
ヘキシチアゾクス	87.5	8.2	15.8	90.2	7.8	8.0
メバニピリム	71.8	9.0	14.7	75.8	8.3	12.6
ヒリミカルブ	93.1	3.1	4.1	94.3	6.1	6.1
トラルコキシジム1	0.0	—	—	0.0	—	—
トラルコキシジム2	0.0	—	—	0.0	—	—
メトキシフェノジト	86.1	4.1	12.0	92.5	3.1	6.7
オリザリン	85.8	3.1	11.1	94.2	4.6	4.6
ナプロアニリト	88.4	0.8	7.6	89.8	3.3	5.0
メソミル・チオシカルブの平均	89.3	2.1	5.1	92.9	3.3	4.1