

GC/MS/MSを用いた野菜類及び果実類中残留農薬の一斉分析法の 妥当性評価(第1報)

難波順子, 浅田幸男, 赤木正章, 北村雅美, 肥塚加奈江(衛生化学科)

【調査研究】

GC/MS/MSを用いた野菜類及び果実類中残留農薬の一斉分析法の 妥当性評価(第1報)

Validation Study on a Method for Simultaneous Determination of Pesticide Residues
in Vegetables and Fruits by GC/MS/MS (1)

難波順子, 浅田幸男, 赤木正章, 北村雅美, 肥塚加奈江(衛生化学科)

Junko Namba, Yukio Asada, Masaaki Akaki, Masami Kitamura, Kanae Koeduka
(Department of Food and Drug Chemical Research)

要 旨

GC/MS/MSを用いた野菜類及び果実類中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価を、厚生労働省の妥当性評価ガイドラインに従って行った。各農薬を試料からアセトニトリルで抽出し、塩析、脱水した後、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製し、GC/MS/MSで測定した。添加を行う代表的な野菜類及び果実類として、ばれいしょ、キャベツ、ほうれん草、りんご及びオレンジの5種類を用いた。添加濃度は試料中0.1ppmおよび0.01ppmの2濃度とし、添加試料を1名が2併行、5日間の枝分かれ試験で行った。その結果、5農産物全てでガイドラインの目標値を両濃度で満たしたのは163種類であった。

[キーワード：残留農薬, 一斉分析法, 妥当性評価, ガスクロマトグラフィータンデム質量分析計]

[Key words : pesticide residues, simultaneous determination, validation study, GC/MS/MS]

1 はじめに

食品中の残留農薬等の規格基準にポジティブリスト制度が導入され、平成18年5月29日から残留基準が設定されていない農薬等を含む食品については一律基準(0.01ppm)が適用され、それを超えた量を含む食品の販売等が禁止された。これに伴い、監視対象農薬が大幅に増加し、一斉分析法を用いた迅速かつ高感度な農産物中の残留農薬分析が求められるようになった。岡山県でも、通知試験法であるGC/MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)¹⁾に示された試験溶液調製法に準拠した一斉分析法により、農産物中の残留農薬検査をGC/MS/MS及びLC/MS/MSを用いて実施している。

また、平成19年11月15日付け食品安全部長通知「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ついて」²⁾(以下「ガイドライン」という。)が平成22年12月24日に改正された³⁾ことにより、通知試験法¹⁾に基づき残留農薬検査を実施する場合においても、食品の多様性等にも配慮の上、平成25年12月13日までに妥当性評価を実施する必要性が生じた。そのため、

代表的な5種類の野菜・果実を用いて、当センターで行っているGC/MS/MSを用いた残留農薬の一斉分析法の妥当性評価を行ったので報告する。

2 方法

2.1 試料

ガイドラインに代表的な野菜・果実として例示されている、ばれいしょ、キャベツ、ほうれん草、りんご及びオレンジを用いた。

2.2 試薬及び標準品

農薬標準品：和光純薬工業製ポジティブリスト制度一斉試験対応混合標準液(PL-1-1, PL-2-1, PL-3-2, PL-4-2, PL-5-1, PL-6-3, PL-11-2, PL-12-1), Sigma-Aldrich製及び和光純薬工業製の残留農薬試験用標準品を用いた。

測定用混合標準液：測定対象農薬の内、和光純薬工業製一斉試験対応混合標準液に含まれていないものは、各残留農薬試

験用標準品から 1000 µg/mL 溶液を調製し、これをアセトン：ヘキサン (1：1) で希釈した混合標準液に添加し、異性体を含む 241 種類の農薬成分の混合標準液 (各 2 µg/mL) を作成した。

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム：

SUPELUCO 製 ENVI-Carb/LC-NH₂ カラム (500 mg/500 mg) 6mL をアセトニトリル及びトルエン (3：1) 混液 10mL でコンディショニングして使用した。

その他の試薬は、和光純薬工業製及び関東化学製の残留農薬試験用または特級品を用いた。

2.3 装置及び条件

装置：ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS/MS)：Varian300MS, Varian450GC

GC/MS/MS 測定条件

カラム：Agilent 製 VF-5MS + 10m EZ Guard 30m × 0.25 mm 膜厚 0.25 µm

カラム温度：50°C (1 分) - 20°C / 分 - 200°C - 2°C / 分 - 220°C - 3°C / 分 - 250°C - 5°C / 分 - 280°C - 20°C / 分 - 310°C (20 分)

注入口温度：260°C

注入量：2µL (高圧注入, スプリットレス)

イオン源温度：220°C

トランスファーライン温度：300°C

クイックスイッチバルブ温度：300°C

流量：キャリアーガス He 定流量 1.2mL/min

イオン化モード (電圧)：EI (70 eV)

測定方法：multiple reaction monitoring (MRM) 測定

2.4 定量

混合標準液をアセトン及びヘキサン (1：1) 混液で適宜希釈し、検量線用の 0.01, 0.02, 0.04, 0.1, 0.2, 0.3 µg/mL の混合標準液を作成した。混合標準液及び試験溶液をそれぞれ 2µL を GC/MS/MS に注入し、濃度とピーク面積から絶対検量線で定量した。

2.5 試験溶液調製法

GC/MS による農薬等の通知試験法 (農産物)¹⁾ に示されている、試験溶液調製法の (2) 果実、野菜、ハーブ、茶及びホップの場合に準拠して抽出、精製を行った。す

なわち、試料 20.0g を量り取り、アセトニトリル 50mL で抽出した後、吸引ろ過した。残渣をアセトニトリルで洗い、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100mL とした。ここから 20mL を分取し、塩化ナトリウム 10g 及び 0.5mol/L リン酸緩衝液 (pH7.0) 20mL を加え、10 分間振とうした。静置した後、分離した水層を捨て、アセトニトリル層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を濃縮し、溶媒を除去した。残留物にアセトニトリル及びトルエン (3：1) 混液 2mL を加えて溶かし、抽出液を得た。コンディショニングした ENVI-Carb/LC-NH₂ カラムに抽出液を負荷した後、アセトニトリル及びトルエン (3：1) 混液 20mL を注入し、全溶出液を 1mL 以下に濃縮した。これにアセトン 10mL を加えて 1mL 以下に濃縮し、再度アセトン 5mL を加えて濃縮し、溶媒を除去した。残留物をアセトン及びヘキサン (1：1) 混液で正確に 2mL とし、この内、1mL を正確に分取して GC/MS/MS 測定用試験溶液とした。なお、残り 1mL を濃縮し、メタノールで 2mL に定容し、0.45 µm のシリンジフィルターでろ過したものを、液体クロマトグラフィー質量分析計 (LC/MS/MS) での測定用試験溶液とした。

2.6 評価の方法

添加濃度はガイドラインに従って、試料中 0.1ppm 及び 0.01ppm の 2 濃度とし、添加後 30 分以上経過してから抽出を行った。性能パラメーターを求めるための実験は、ガイドラインに示された実験計画に従い、添加試料を 1 名が 2 併行、5 日間の枝分かかれ試験で行った。得られたデータから定量限界、選択性、真度、併行精度及び室内精度を求め、ガイドラインに従って評価を行った。

3 結果及び考察

3.1 定量限界

異性体を含めて 241 種類の農薬成分を 2 つのグループ (グループ 1 及び 2) に分けて MRM 測定を行った。定量イオンと確認イオンのプリカーサーイオン (Q1)、プロダクトイオン (Q3) 及びコリジョンエネルギー (CE) は、メーカー推奨値を参考にして、感度良く測定できる条件を設定した (表 1 及び 2)。0.01ppm の定量感度を得られない農薬成分が 3 種類 (ジクロラン、イマザメタベンズメチルエステル、チフルザミド) あった。これら 3 農薬は、

表1 分析条件(グループ1)

	農薬名	保持時間 (min)	定量イオン		確認イオン		CE (V)
			Q1	> Q3	Q1	> Q3	
1	Omethoate	9.36	156	> 110	156	> 80	15
2	Propoxur	9.42	110	> 64	110	> 63	20
3	Chlorethoxyfos	9.48	153	> 125	153	> 97	5
4	Ethoprophos	9.63	242	> 200	242	> 158	5
5	Trifluralin	9.75	306	> 264	306	> 206	15
6	Dicrotophos	9.91	127	> 95	127	> 109	25
7	Phorate	10.17	121	> 93	121	> 65	6
8	Dimethoate	10.55	125	> 47	125	> 79	20
9	Carbofuran	10.57	164	> 149	164	> 131	15
10	Simazine	10.62	201	> 173	201	> 138	10
11	Atrazine	10.79	215	> 200	215	> 173	10
12	Clomazone	10.83	204	> 107	204	> 78	35
13	Quintozene	10.92	237	> 119	237	> 143	30
14	Terbufos	10.96	231	> 175	231	> 157	15
15	gamma-BHC	11.03	219	> 147	219	> 183	20
16	Diazinon	11.01	304	> 179	304	> 162	10
17	Propyzamide	11.03	173	> 145	173	> 109	20
18	Tefluthrine	11.26	177	> 127	177	> 137	15
19	Isazophos	11.33	161	> 119	161	> 120	25
20	Ethylthiomethone	11.35	142	> 109	142	> 81	10
21	Triallate	11.53	268	> 184	268	> 226	15
22	Formothion	11.90	125	> 93	125	> 79	10
23	Propanil	12.35	161	> 99	161	> 90	35
24	Chlorpyrifos-methyl	12.29	286	> 271	286	> 241	20
25	Vinclozoline	12.36	285	> 212	285	> 241	5
26	Spiroxamine	12.35	100	> 72	100	> 58	10
27	Alachlor	12.47	160	> 132	160	> 145	11
28	Parathion-methyl	12.48	263	> 109	263	> 127	10
29	Fenchlorphos	12.84	285	> 270	285	> 240	25
30	Pyrimiphos-methyl	13.01	290	> 125	290	> 151	20
31	Terbutryn	13.11	241	> 185	241	> 170	10
32	Fenitrothion	13.22	277	> 260	277	> 109	10
33	Ethofumesate	13.19	207	> 137	207	> 161	10
34	1-Naphthylacetamide	13.24	185	> 141	185	> 142	10
35	Malathion	13.37	173	> 99	173	> 127	15
36	Metolachlor	13.61	162	> 133	162	> 120	11
37	Chlorpyrifos	13.65	314	> 258	314	> 286	15
38	Thiobencarb	13.75	125	> 89	125	> 99	20
39	Fenpropimorf	13.78	128	> 70	128	> 84	25
40	Fenthion	13.81	278	> 109	278	> 125	25
41	Isofenphos oxon	13.94	229	> 201	229	> 121	15
42	Parathion	13.91	291	> 109	291	> 137	10
43	Triadimefon	14.01	208	> 181	208	> 127	10
44	Methoprene	14.60	153	> 111	153	> 107	5
45	(E)-Clofenvinfos	14.76	267	> 159	267	> 203	15
46	Pendimethalin	14.83	252	> 162	252	> 191	10
47	Fipronil	14.89	367	> 213	367	> 255	25
48	Bioallethrin	15.07	123	> 81	123	> 95	10
49	Penconazole	15.13	248	> 157	248	> 192	20
50	Isofenphos	15.09	213	> 121	213	> 185	10
51	(Z)-Clofenvinfos	15.22	267	> 159	267	> 203	15
52	Mecarbam	15.27	131	> 74	131	> 86	15
53	Triadimenol	15.60	168	> 70	168	> 112	10
54	Procymidon	15.70	283	> 96	283	> 255	15
55	Bromophos-ethyl	16.03	359	> 303	359	> 331	15
56	Methidathion	16.11	145	> 85	145	> 58	15
57	Propaphos	16.20	304	> 220	304	> 262	10

58	Chlorbenside	16.25	268	>	125	268	>	127	10
59	Tetrachlorvinphos	16.36	329	>	109	329	>	314	25
60	alpha-Endosulfan	16.80	195	>	159	195	>	125	20
61	Flutriafol	16.90	219	>	123	219	>	95	30
62	Fenamiphos	16.95	303	>	260	303	>	243	15
63	Flutolanil	17.12	173	>	145	173	>	95	25
64	Chlorofenson	17.29	302	>	175	302	>	111	10
65	Isoprothiolane	17.49	290	>	204	290	>	118	5
66	Profenofos	17.53	339	>	269	339	>	311	10
67	Oxadiazon	17.69	175	>	112	175	>	147	10
68	Myclobutanil	17.98	179	>	125	179	>	152	10
69	Oxyfluorfen	18.00	252	>	146	252	>	170	30
70	Buprofezin	18.07	172	>	115	172	>	83	20
71	Kresoxim-methyl	18.22	206	>	116	206	>	131	10
72	Carboxin	18.25	143	>	87	143	>	115	10
73	Chlorfenapyr	18.57	247	>	200	247	>	227	30
74	Cyproconazole	18.70	222	>	125	222	>	85	15
75	1,1-Dichloro-2,2-bis(4-ethylphenyl)ethan	18.89	223	>	167	223	>	179	15
76	Flufenpyr-ethyl	19.31	408	>	345	408	>	373	15
77	Chlorobenzilate	19.44	251	>	139	251	>	111	20
78	beta-Endosulfan	19.62	195	>	159	195	>	125	20
79	Ethion	19.83	231	>	175	231	>	185	15
80	Triazophos	20.70	161	>	77	161	>	91	25
81	Carfentrazone-ethyl	21.10	312	>	151	312	>	195	25
82	Norflurazon	21.53	303	>	145	303	>	260	35
83	Propiconazole	21.45	259	>	69	259	>	191	10
84	Quinoxifen	21.52	237	>	208	237	>	181	35
85	Hexazinone	22.29	171	>	71	171	>	85	20
86	Tebuconazole	22.63	250	>	125	250	>	70	10
87	Propargite	22.69	173	>	135	173	>	115	20
88	Diflufenican	22.91	266	>	218	266	>	183	25
89	Epoxiconazole	23.38	192	>	138	192	>	111	20
90	Acetamipride	24.08	152	>	116	152	>	112	15
91	Fosmet	24.39	160	>	133	160	>	77	15
92	Bromopropylate	24.61	341	>	185	341	>	155	30
93	Bifenthrin	24.58	181	>	166	181	>	153	10
94	Picolinafen	24.73	376	>	238	376	>	145	40
95	Methoxychlor	25.06	227	>	169	227	>	141	25
96	Fenpropathrin	25.15	265	>	210	265	>	181	25
97	Fenamidone	25.20	268	>	180	268	>	92	20
98	Azinophos-methyl	26.64	160	>	132	160	>	104	10
99	Pyriproxyfen	27.07	136	>	78	136	>	96	20
100	Cyhalothrin	27.16	197	>	141	197	>	161	5
101	Fenarimol	28.09	251	>	139	251	>	111	20
102	Pyraclufos	29.06	360	>	194	360	>	139	10
103	Spirodiclofen	29.43	312	>	109	312	>	259	20
104	Bitertanol	29.80	170	>	115	170	>	141	35
105	Permethrin	30.06	163	>	127	163	>	91	10
106	Fluquinconazole	30.43	340	>	298	340	>	108	25
107	Pyridaben	30.40	147	>	132	147	>	119	15
108	Fenbuconazole	31.42	198	>	129	198	>	102	25
109	Cyfluthrin	31.62	163	>	127	163	>	91	10
110	Cypermethrin	32.45	163	>	127	163	>	91	10
111	Flucythrinate	32.89	199	>	107	199	>	157	15
112	Fluridon	33.80	328	>	189	328	>	127	40
113	Fenvalerate	34.61	225	>	119	225	>	147	15
114	Fluvalinate	34.88	250	>	200	250	>	208	25
115	Difenoconazole	35.44	323	>	265	323	>	202	25
116	Deltamethrin	35.90	253	>	174	253	>	172	10
117	Cinidon-ethyl	37.38	330	>	302	330	>	222	30

表2 分析条件(グループ2)

	農薬名	保持時間 (min)	定量イオン		確認イオン		CE (V)
			Q1	> Q3	Q1	> Q3	
1	Mevinphos	8.11	192	> 164	192	> 127	5
2	XMC	8.93	136	> 121	136	> 103	20
3	Isoprocarb	8.92	122	> 77	122	> 107	25
4	Tecnazene	9.40	203	> 85	203	> 143	30
5	Propachlor	9.52	176	> 92	176	> 120	20
6	Ethalfuralin	9.64	276	> 202	276	> 248	10
7	Benfluralin	9.79	292	> 206	292	> 160	15
8	Chlorpropham	9.81	213	> 127	213	> 171	10
9	Monocrotophos	9.91	127	> 95	127	> 109	25
10	Cadusafos	10.05	159	> 131	159	> 97	10
11	alpha-BHC	10.36	183	> 147	219	> 183	20
12	Hexachlorobenzene	10.46	284	> 249	284	> 214	25
13	Dichloran	10.61	206	> 176	206	> 148	20
14	Propazine	10.73	229	> 58	229	> 187	10
15	beta-BHC	10.84	183	> 147	219	> 183	20
16	Cyanophos	11.04	243	> 109	243	> 127	10
17	Phosphamidon	11.10	127	> 109	127	> 95	20
18	Pyroquilon	11.15	173	> 130	173	> 144	15
19	Pyrimethanil	11.24	198	> 118	198	> 158	40
20	Prohydrojasmon	11.28	153	> 97	153	> 83	15
21	Terbacil	11.41	161	> 88	161	> 144	25
22	delta-BHC	11.63	183	> 147	219	> 183	20
23	Iprobenfos	11.69	204	> 91	204	> 171	10
24	Benoxacor	11.88	259	> 120	259	> 176	15
25	Dichlofenthion	12.07	279	> 223	279	> 251	10
26	Benfuresate	12.09	256	> 163	256	> 121	25
27	Dimethenamid	12.15	230	> 154	230	> 111	20
28	Acetochlor	12.20	162	> 91	162	> 146	30
29	Bromobutide	12.27	232	> 114	232	> 176	15
30	Tolclofos-methyl	12.50	265	> 250	265	> 93	25
31	Simetryn	12.57	213	> 170	213	> 137	15
32	Metalaxyl	12.62	206	> 132	206	> 162	10
33	Ametryn	12.66	227	> 170	227	> 212	15
34	Prometryn	12.70	241	> 184	241	> 58	10
35	Heptachlor	12.79	272	> 237	272	> 235	15
36	Bromacil	13.28	205	> 132	205	> 188	30
37	Esprocarb	13.41	222	> 91	222	> 162	10
38	Diethofencarb	13.61	267	> 168	267	> 196	20
39	Quinoclamine	13.71	207	> 116	207	> 126	30
40	(Z)-Dimethylvinphos	13.72	295	> 109	295	> 280	20
41	Cyanazine	13.80	225	> 189	225	> 172	15
42	Chlorthal-dimethyl	13.84	301	> 273	301	> 222	20
43	Aldrin	13.91	263	> 193	263	> 228	30
44	Tetraconazole	13.95	336	> 204	336	> 156	30
45	Nitrothal-isopropyl	14.10	236	> 194	236	> 148	15
46	Dicofol (Kelthane) (deg.)	14.26	250	> 139	250	> 215	10
47	Bromophos	14.45	331	> 316	331	> 286	30
48	Diphenamid	14.47	239	> 167	239	> 152	25
49	Fosthiazate	14.52	195	> 103	195	> 139	10
50	Fthalide	14.57	243	> 144	243	> 142	35
51	Dimethametryn	15.04	212	> 122	212	> 94	15
52	(Z)-Pyrifenox	15.20	262	> 91	262	> 200	15
53	Oxychlorane	15.26	387	> 263	387	> 287	10
54	Heptachlor Epoxide (isomer A)	15.29	353	> 263	353	> 282	15
55	Phenthoate	15.42	274	> 121	274	> 246	10
56	Dichlocymet	15.43	277	> 221	277	> 155	15
57	Heptachlor Epoxide (isomer B)	15.44	183	> 119	183	> 155	20
58	Quinolphos	15.47	146	> 118	146	> 91	10
59	Dimepiperate	15.67	145	> 69	145	> 112	20
60	(E)-Pyrifenox	16.28	262	> 91	262	> 200	15
61	Butachlor	16.41	176	> 147	176	> 134	15

62	Paclobutrazol	16.47	236 > 125	236 > 167	10
63	Fenothiocarb	16.58	160 > 72	160 > 106	15
64	Butamifos	16.78	286 > 202	286 > 258	10
65	Imazamethabenz methyl ester	16.91	144 > 89	144 > 116	15
66	Napropamide	17.10	271 > 72	271 > 128	15
67	Hexaconazole	17.27	214 > 124	214 > 152	30
68	Prothiofos	17.31	309 > 239	309 > 281	15
69	Pretilachlor	17.36	176 > 147	176 > 134	15
70	Tricyclazole	17.69	189 > 161	189 > 135	20
71	p,p'-DDE	17.74	246 > 176	246 > 211	25
72	Thifluzamide	17.71	194 > 166	194 > 125	10
73	Uniconazole P	17.76	234 > 137	234 > 165	15
74	Tribufos	17.80	169 > 57	169 > 115	5
75	Flamprop methyl	17.84	230 > 170	230 > 129	25
76	Dieldrin	18.04	263 > 193	263 > 228	25
77	Bupirimate	18.05	208 > 98	208 > 164	25
78	Imibenconazole desbenzyl type	18.24	270 > 235	270 > 166	10
79	Azaconazole	18.42	217 > 173	217 > 145	20
80	Isoxathion	18.68	177 > 130	177 > 116	10
81	Fenoxanil	18.87	293 > 155	293 > 198	15
82	Endrin	19.06	263 > 193	263 > 228	25
83	(Z)-Pyriminobac-methyl	19.34	302 > 256	302 > 230	15
84	Fensulfothion	19.50	293 > 125	293 > 141	12
85	Oxadixyl	19.88	163 > 132	163 > 117	20
86	p,p'-DDD	19.87	235 > 165	235 > 199	25
87	o,p'-DDT	19.97	235 > 165	235 > 199	25
88	Fluacrypyrim	20.31	204 > 189	204 > 161	15
89	Mepronil	20.60	269 > 119	269 > 210	10
90	Benalaxyl	21.06	206 > 132	206 > 148	15
91	Edifenphos	21.39	310 > 173	310 > 191	10
92	Trifloxystrobin	21.45	222 > 130	222 > 162	10
93	(E)-Pyriminobac-methyl	21.67	302 > 256	302 > 230	15
94	Lenacil	21.71	153 > 136	153 > 82	20
95	p,p'-DDT	21.84	235 > 165	235 > 199	25
96	Pyraflufenethyl	21.87	412 > 349	412 > 307	25
97	Thenylchlor	22.33	288 > 141	288 > 174	10
98	Diclofop-methyl	22.71	253 > 162	253 > 184	15
99	Zoxamide	23.43	187 > 159	187 > 123	20
100	Mefenpyr diethyl	23.56	253 > 189	253 > 128	35
101	Pyributicarb	23.70	165 > 108	165 > 93	15
102	Pyridaphenthion	24.03	340 > 199	340 > 204	10
103	EPN	24.55	169 > 141	185 > 157	15,10
104	Piperophos	24.68	320 > 122	140 > 98	10,25
105	Etoxazole	25.05	359 > 330	359 > 340	10
106	Tebufenpyrad	25.42	318 > 131	318 > 145	15
107	Anilofos	25.44	226 > 184.1	226 > 157	5
108	Bifenox	25.57	341 > 281	341 > 310	15
109	Phenothrin	25.96	183 > 153	183 > 168	15
110	Tetradifon	26.11	229 > 201	229 > 166	25
111	Phosalone	26.42	182 > 111	182 > 138	11
112	Mefenacet	27.19	192 > 136	192 > 164	10
113	Cyhalofop-butyl	27.25	256 > 120	256 > 184	20
114	Pyrazophos	28.20	221 > 193	221 > 177	15
115	Acrinathrin	28.36	289 > 93	289 > 91	20
116	Cafenstrole	31.27	188 > 119	100 > 72	35,20
117	Halfenprox	32.55	263 > 129	263 > 169	25
118	Ethofenprox	33.23	163 > 135	163 > 107	10
119	Flumioxazin	34.62	354 > 176	354 > 325	20
120	Tralomethrin	35.90	253 > 174	253 > 172	10
121	Flumiclorac-pentyl	36.09	423 > 318	423 > 308	15
122	Tolfenpyrad	36.51	383 > 145	383 > 171	10
123	Imibenconazole	37.14	253 > 82	375 > 260	10,20
124	Fluthiacet-methyl	37.58	403 > 84	403 > 286	15

定量限界が目標値を満たさない農薬

0.01ppmの標準品のピーク形状が良好ではなく、S/N \geq 10を常に満たすことが難しかった。

3.2 選択性

ブランク試料を試験法に従って測定し、定量を妨害するピークの有無を確認した。妨害ピークを認めた場合で、ガイドラインの許容範囲を超えていたのは、ほうれん草中のトリアジメノール、オレンジ中のホレート、カズサホス及びキノクラミンであった。図1にホレート標準品(0.01ppm)、図2にオレンジブランク試料のクロマトグラムを示す。オレンジブランク試料では、ホレートの保持時間(10.17min)より少し早い保持時間(10.14min)に、ホレート標準品(0.01ppm)のピークの10倍以上の妨害ピークがあり、このピークの影響で選択性が満たされなかった。オレンジブランク試料はクロマトグラムで示される、選択性の許容範囲を超える様な妨害ピークが複数存在していること等から、精製が十分ではないことが推測された。

3.3 真度

定量限界及び選択性で目標値を満たす項目について、真度及び精度の評価を行った。真度の結果を表3に示す。真度の目標値(70~120%)を両添加濃度で満たす農薬は、ばれいしょ230種類、キャベツ211種類、ほうれん草210種類、りんご207種類、オレンジ193種類であった。目標値から外れる農薬では、120%を超える農薬が70%未満の農薬よりも多く、正のマトリックス効果を受けたことが推測された。特にオレンジで120%を超える農薬が41種類あり、顕著であった。両添加濃度で真度が50~150%を満たす農薬は、いずれの農産物でも227種類以上と94%を超え、スクリーニングとしての有用性が示された。

3.4 精度

精度の結果を表4に示す。併行精度はいずれの農産物でもほぼ全ての農薬で目標値を満たす良好な結果が得られた。併行精度で目標値を満たさない農薬は、全て真度でも目標値を満たしておらず、これらの農薬は一斉分析

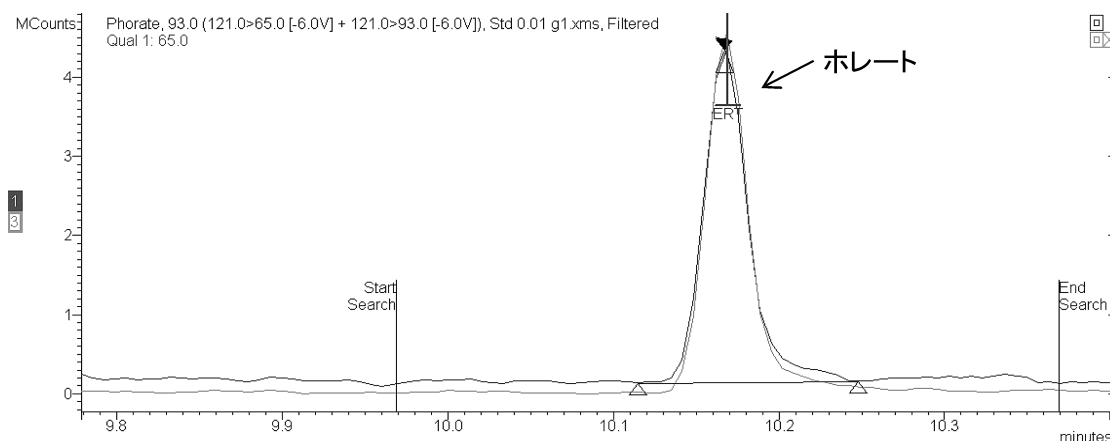


図1 ホレート標準品(0.01ppm)のクロマトグラム

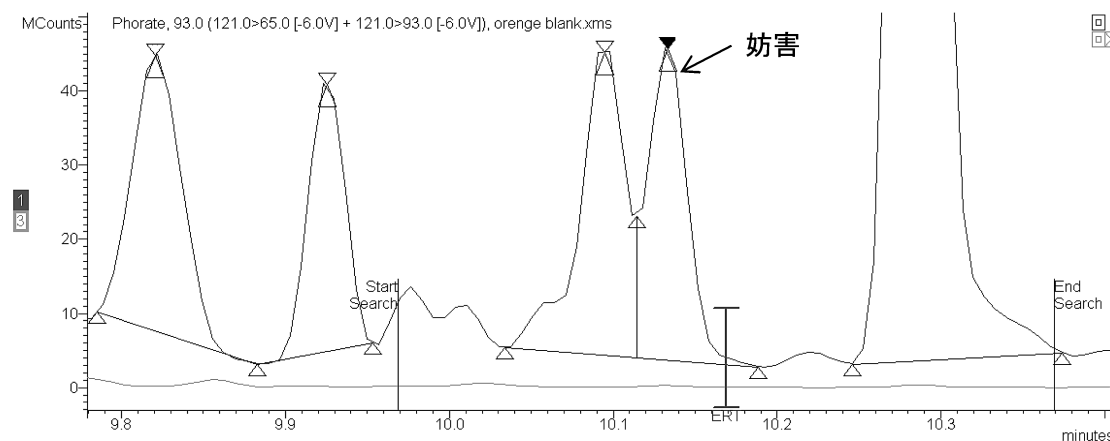


図2 オレンジブランク試料のクロマトグラム

法では定量性に問題があると考えられた。室内精度は併行精度よりも目標値を満たさない農薬が多かった。0.01ppm添加時に室内精度の目標値を満たしていない場合が多く、それらの農薬は他の農薬に比べて定量感度を得ることが難しい農薬であることが多かった。

3.5 妥当性評価結果

妥当性評価で適合と判定される両添加濃度で真度及び精度の目標値を全て満たす農薬はA, 0.01ppm添加時のみ目標値を満たす農薬はB, 0.1ppm添加時のみ目標値を満たす農薬はC, 両濃度添加時共に目標値を満たさない農薬はD, 定量限界又は選択性が許容範囲外の農薬はEに分類した。各農産物別の集計結果を表5に、農薬別の詳細結果を表6に示す。目標値を全て満たすAの農薬は、ばれいしょ229種類、キャベツ209種類、ほうれん草210種類、りんご200種類、オレンジ192種類であった。5農産物ともにAであった農薬は163種類であり、妥当性を評価した241種類の68%であった。野菜の方が目標値を満たす農薬が多く、野菜3農産物ともにAで

あった農薬は、果実2農産物ともにAであった農薬よりも多かった。

3.6 実態調査

本法を用いて県内で市販されていた野菜29種類112検体、果実10種類22検体、合計39種類134検体について実態調査を行い、GC/MS/MS測定での農薬の検出結果を表7に示す。14検体から農薬が延べ17種類検出された。検出された農薬は全て残留基準値以下であった。野菜は4種類8検体から8農薬検出されており、検体の検出率は7%であった。一方、果実は5種類6検体から9農薬検出されており、検体の検出率は27%であり、野菜よりも高頻度に検出された。検査検体の内、輸入品は野菜1種類1検体、果実4種類5検体、合計5種類6検体であった。その中で果実3種類4検体から6農薬検出されており、検体の検出率は80%であった。調査した検体数が少ないが、輸入品の果実から高頻度に農薬が検出されることが推測された。今後とも実態調査を行っていききたい。

表3 真度結果

真度 (%)	ばれいしょ	キャベツ	ほうれん草	りんご	オレンジ
<50	1	1	3	6	1
50-70	1	3	1	4	1
70-120	230	211	210	207	193
120-150	6	13	22	16	36
150<	0	10	1	5	5

添加濃度0.1ppm及び0.01ppmにおける目標値 真度:70-120%

表4 精度の目標値を満たした農薬数

精度	ばれいしょ	キャベツ	ほうれん草	りんご	オレンジ
併行精度	238	237	236	234	236
室内精度	235	228	232	226	237

添加濃度0.1ppm目標値 併行精度:RSD%<15, 室内精度:RSD%<20

添加濃度0.01ppm目標値 併行精度:RSD%<25, 室内精度:RSD%<30

表5 妥当性評価結果まとめ

グループ	判定		ばれいしょ	キャベツ	ほうれん草	りんご	オレンジ	5種まとめ
	0.01ppm	0.1ppm						
A	○	○	229	209	210	200	192	163
B	○	×	0	2	0	9	5	7
C	×	○	7	12	23	21	32	39
D	×	×	2	15	4	8	7	26
E	定量限界,選択性 ×		3	3	4	3	5	6

表6 妥当性評価結果詳細

	農薬名	ばれいしょ	キャベツ	ホウレンソウ	りんご	オレンジ	5種まとめ
1	(E)-Clofenvinfos	A	A	A	A	A	A
2	(E)-PyrifenoX	A	A	A	D	A	D
3	(E)-Pyriminobac-methyl	A	A	A	A	A	A
4	(Z)-Clofenvinfos	A	A	A	A	A	A
5	(Z)-Dimethylvinphos	A	A	A	A	C	C
6	(Z)-PyrifenoX	A	A	A	D	A	D
7	(Z)-Pyriminobac-methyl	A	A	A	A	A	A
8	1,1-Dichloro-2,2-bis(4-ethylphenyl)ethan	A	A	A	A	A	A
9	1-Naphthylacetamide	A	D	C	C	C	D
10	Acetamidpride	A	D	C	A	C	D
11	Acetochlor	A	A	A	C	C	C
12	Acrinathrin	A	A	A	A	A	A
13	Alachlor	A	A	A	A	A	A
14	Aldrin	A	A	A	A	A	A
15	alpha-BHC	A	A	A	B	A	B
16	alpha-Endosulfan	A	A	A	A	A	A
17	Ametryn	A	A	A	A	A	A
18	Anilofos	C	A	A	A	A	C
19	Atrazine	A	A	A	A	A	A
20	Azaconazole	A	A	A	A	A	A
21	Azinophos-methyl	A	D	C	C	A	D
22	Benalaxyl	A	A	A	C	A	C
23	Benfluralin	A	A	A	A	A	A
24	Benfuresate	A	A	A	C	A	C
25	Benoxacor	A	A	A	A	A	A
26	beta-BHC	A	A	A	A	A	A
27	beta-Endosulfan	A	A	A	A	A	A
28	BifenoX	A	A	A	A	A	A
29	Bifenthrin	A	A	A	A	A	A
30	Bioallethrin	A	A	A	C	D	D
31	Bitertanol	A	A	D	A	A	D
32	Bromacil	A	C	A	C	A	C
33	Bromobutide	A	A	A	A	A	A
34	Bromophos	A	A	A	A	A	A
35	Bromophos-ethyl	A	A	A	A	A	A
36	Bromopropylate	A	A	A	A	A	A
37	Bupirimate	A	A	A	A	A	A
38	Buprofezin	A	A	A	A	A	A
39	Butachlor	A	A	A	A	A	A
40	Butamifos	A	A	A	A	A	A
41	Cadusafos	A	A	A	A	C	C
42	Cafenstrole	A	C	C	A	A	C
43	Carbofuran	A	C	A	C	A	C
44	Carboxin	D	D	D	D	A	D
45	Carfentrazone-ethyl	A	A	A	A	A	A
46	Chlorbenside	A	A	A	A	A	A
47	Chlorethoxyfos	A	A	A	D	A	D
48	Chlorfenapyr	A	A	A	A	A	A
49	Chlorobenzilate	A	A	A	A	A	A
50	Chlorofenson	A	A	A	A	A	A
51	Chlorpropham	A	A	A	A	C	C
52	Chlorpyrifos	A	A	A	A	A	A
53	Chlorpyrifos-methyl	A	A	A	A	A	A
54	Chlorthal-dimethyl	A	A	A	A	A	A
55	Cinidon-ethyl	A	A	A	A	A	A
56	Clomazone	A	A	A	A	A	A
57	Cyanazine	A	B	A	A	A	B
58	Cyanophos	A	A	A	A	C	C
59	Cyfluthrin	A	A	A	A	A	A
60	Cyhalofop-butyl	A	A	A	A	A	A
61	Cyhalothrin	A	A	A	A	A	A
62	Cypermethrin	A	A	A	A	A	A
63	Cyproconazole	A	A	A	A	A	A
64	delta-BHC	A	A	A	A	A	A

65	Deltamethrin	A	A	A	A	A	A
66	Diazinon	A	A	A	A	A	A
67	Dichlocymet	A	A	A	A	A	A
68	Dichlofenthion	A	A	A	A	A	A
69	Dichloran	E	E	E	E	E	E
70	Diclofop-methyl	A	A	A	A	A	A
71	Dicofol (Kelthane) (deg.)	A	A	A	D	A	D
72	Dicrotophos	A	D	C	C	C	D
73	Dieldrin	A	A	A	A	A	A
74	Diethofencarb	A	A	A	A	A	A
75	Difenoconazole	A	A	A	A	A	A
76	Diflufenican	A	A	A	A	A	A
77	Dimepiperate	A	A	A	A	A	A
78	Dimethametryn	A	A	A	A	C	C
79	Dimethenamid	A	A	A	A	A	A
80	Dimethoate	A	D	C	C	D	D
81	Diphenamid	A	A	A	A	A	A
82	Edifenphos	C	A	C	A	A	C
83	Endrin	A	A	A	A	A	A
84	EPN	A	A	A	A	A	A
85	Epoxiconazole	A	A	A	A	A	A
86	Esprocarb	A	A	A	A	A	A
87	Ethalfuralin	A	A	A	A	A	A
88	Ethion	A	A	A	A	A	A
89	Ethofenprox	A	A	A	A	A	A
90	Ethofumesate	A	A	A	A	A	A
91	Ethoprophos	A	A	A	A	A	A
92	Ethylthiomethone	D	B	D	D	A	D
93	Etoxazole	A	A	A	A	A	A
94	Fenamidone	A	A	A	A	A	A
95	Fenamiphos	A	A	A	A	A	A
96	Fenarimol	A	A	A	A	A	A
97	Fenbuconazole	A	A	C	C	A	C
98	Fenchlorphos	A	A	A	A	A	A
99	Fenitrothion	A	A	A	B	B	B
100	Fenothiocarb	A	C	A	A	C	C
101	Fenoxanil	A	A	A	A	A	A
102	Fenpropathrin	A	A	A	A	A	A
103	Fenpropimorf	A	A	A	A	A	A
104	Fensulfothion	A	C	C	A	C	C
105	Fenthion	A	A	A	A	A	A
106	Fenvalerate	A	A	A	A	A	A
107	Fipronil	A	A	A	A	A	A
108	Flamprop methyl	A	A	A	A	A	A
109	Fluacrypyrim	A	A	A	A	A	A
110	Flucythrinate	A	A	A	A	A	A
111	Flufenpyr-ethyl	A	A	A	A	A	A
112	Flumiclorac-pentyl	A	A	A	A	A	A
113	Flumioxazin	A	A	A	A	A	A
114	Fluquinconazole	A	A	A	A	A	A
115	Fluridon	A	A	A	C	C	C
116	Fluthiacet-methyl	A	A	A	A	C	C
117	Flutolanil	A	A	A	A	A	A
118	Flutriafol	A	A	A	A	A	A
119	Fluvalinate	A	A	A	A	A	A
120	Formothion	A	A	A	A	A	A
121	Fosmet	A	C	A	A	A	C
122	Fosthiazate	C	C	C	C	C	C
123	Fthalide	A	A	A	A	A	A
124	gamma-BHC	A	A	A	A	A	A
125	Halfenprox	A	A	A	A	A	A
126	Heptachlor	A	A	A	A	A	A
127	Heptachlor Epoxide (isomer A)	A	A	A	A	A	A
128	Heptachlor Epoxide (isomer B)	A	A	A	A	A	A
129	Hexachlorobenzene	A	A	A	D	A	D
130	Hexaconazole	A	A	C	C	C	C
131	Hexazinone	A	A	A	C	A	C
132	Imazamethabenz methyl ester	E	E	E	E	E	E

133	Imibenconazole	A	A	C	C	C	C
134	Imibenconazole desbenzyl type	A	D	D	C	D	D
135	Iprobenfos	A	A	A	A	C	C
136	Isazophos	A	A	A	A	A	A
137	Isofenphos	A	A	A	A	A	A
138	Isofenphos oxon	A	A	A	A	A	A
139	Isoprocarb	A	A	A	A	A	A
140	Isoprothiolane	A	A	A	A	A	A
141	Isoxathion	C	A	C	A	C	C
142	Kresoxim-methyl	A	A	A	A	A	A
143	Lenacil	A	A	A	A	A	A
144	Malathion	A	A	A	A	A	A
145	Mecarbam	A	A	A	A	A	A
146	Mefenacet	A	A	A	A	A	A
147	Mefenpyr diethyl	A	A	A	A	A	A
148	Mepronil	A	C	A	A	A	C
149	Metalaxyl	A	A	C	A	A	C
150	Methidathion	A	A	A	A	A	A
151	Methoprene	C	D	C	C	D	D
152	Methoxychlor	A	A	A	A	A	A
153	Metolachlor	A	A	A	A	A	A
154	Mevinphos	A	D	A	B	A	D
155	Monocrotophos	A	C	A	A	C	C
156	Myclobutanil	A	A	A	A	A	A
157	Napropamide	A	A	A	A	A	A
158	Nitrothal-isopropyl	A	A	A	A	A	A
159	Norflurazon	A	A	A	A	A	A
160	o,p'-DDT	A	A	A	A	A	A
161	Omethoate	A	D	C	B	C	D
162	Oxadiazon	A	A	A	A	A	A
163	Oxadixyl	A	A	A	A	A	A
164	Oxychlorane	A	A	A	A	A	A
165	Oxyfluorfen	A	A	A	B	B	B
166	p,p'-DDD	A	A	A	A	A	A
167	p,p'-DDE	A	A	A	A	A	A
168	p,p'-DDT	A	A	A	A	A	A
169	Paclobutrazol	A	A	A	A	C	C
170	Parathion	A	A	A	B	B	B
171	Parathion-methyl	A	A	A	B	B	B
172	Penconazole	A	A	A	A	D	D
173	Pendimethalin	A	A	A	A	B	B
174	Permethrin	A	A	A	A	A	A
175	Phenothrin	A	A	A	A	A	A
176	Phenthoate	A	A	A	A	A	A
177	Phorate	A	A	A	B	E	E
178	Phosalone	A	A	A	A	A	A
179	Phosphamidon	A	C	C	C	C	C
180	Picolinafen	A	A	A	A	A	A
181	Piperophos	A	A	A	A	A	A
182	Pretilachlor	A	A	A	A	A	A
183	Procymidon	A	A	A	A	A	A
184	Profenofos	A	A	A	A	A	A
185	Prohydrojasmon	A	A	A	A	A	A
186	Prometryn	A	A	A	A	A	A
187	Propachlor	A	A	A	A	A	A
188	Propanil	A	D	C	B	C	D
189	Propaphos	A	A	A	A	A	A
190	Propargite	A	A	A	A	A	A
191	Propazine	A	A	A	A	A	A
192	Propiconazole	A	A	A	A	A	A
193	Propoxur	A	A	A	A	A	A
194	Propyzamide	A	A	A	A	A	A
195	Prothiofos	A	A	A	A	A	A
196	Pyraclufos	A	A	C	A	A	C
197	Pyraflufenethyl	A	A	A	A	A	A
198	Pyrazophos	A	A	A	A	A	A
199	Pyributicarb	A	A	A	A	A	A
200	Pyridaben	A	A	A	A	A	A

201	Pyridaphenthion	A	A	A	A	A	A
202	Pyrimethanil	A	A	A	A	C	C
203	Pyrimiphos-methyl	A	A	C	A	A	C
204	Pyriproxyfen	A	A	A	A	A	A
205	Pyroquilon	C	D	C	C	D	D
206	Quinoclamine	A	A	A	A	E	E
207	Quinolphos	A	A	A	A	A	A
208	Quinoxifen	A	A	A	A	A	A
209	Quintozene	A	A	A	A	A	A
210	Simazine	A	A	A	C	C	C
211	Simetryn	A	A	A	A	C	C
212	Spirodiclofen	C	A	A	A	D	D
213	Spiroxamine	A	D	A	A	A	D
214	Tebufenpyrad	A	A	A	A	A	A
215	Tecnazene	A	A	A	A	A	A
216	Tefluthrine	A	A	A	A	A	A
217	Terbacil	A	C	A	A	C	C
218	Tebuconazole	A	A	A	A	A	A
219	Terbufos	A	A	A	A	A	A
220	Terbutryn	A	A	A	A	A	A
221	Tetrachlorvinphos	A	A	A	A	A	A
222	Tetraconazole	A	A	A	A	A	A
223	Tetradifon	A	A	A	A	A	A
224	Thenylchlor	A	A	A	A	A	A
225	Thifluzamide	E	E	E	E	E	E
226	Thiobencarb	A	A	A	A	C	C
227	Tolclofos-methyl	A	A	A	A	A	A
228	Tolfenpyrad	A	A	A	A	A	A
229	Tralomethrin	A	A	A	A	A	A
230	Triadimefon	A	A	A	A	A	A
231	Triadimenol	A	A	E	A	C	E
232	Triallate	A	A	A	A	A	A
233	Triazophos	A	A	C	A	A	C
234	Tribufos	A	A	A	A	C	C
235	Tricyclazole	A	D	C	A	C	D
236	Trifloxystrobin	A	A	A	A	A	A
237	Trifluralin	A	A	A	A	A	A
238	Uniconazole P	A	A	A	A	A	A
239	Vinclozoline	A	A	A	A	A	A
240	XMC	A	D	A	A	C	D
241	Zoxamide	A	C	A	D	A	D

表7 検出結果

検出検体 (検出数/検体数)	検出農薬	検出値 (ppm)	基準値 (ppm)	産地
はくさい (2/5)	ベルメリン	0.01	5.0	国産
	エトフェンプロックス	0.02	5	国産
ねぎ (1/3)	マラチオン	0.02	8.0	国産
トマト (2/8)	ジエトフェンカルブ	0.14	5.0	国産
	ブプロフェジン	0.02	1	国産
きゅうり (3/8)	ホスチアゼート	0.02	0.2	国産
	クロルフェナピル	0.03	0.5	国産
	シベルメリン	0.01	0.5	国産
イチゴ (1/1)	フルバリネート	0.18	1.0	国産
	テブフェンピラド	0.02	1	
ぶどう (1/1)	テブコナゾール	0.02	10	国産
オレンジ (1/1)	クロルピリホス	0.36	1	輸入
	フェンプロバトリン	0.03	5	
バナナ (2/2)	クロルピリホス	0.02	3	輸入
	ミクロブタニル	0.07	2	輸入
レモン (1/1)	クロルピリホス	0.09	1	輸入
	ホスメット	0.03	5	

4 まとめ

GC/MS/MSを用いた野菜類及び果実類中残留農薬の一斉分析法の妥当性評価を、厚生労働省の妥当性評価ガイドラインに従って行い、次の結果を得た。

- ①異性体を含めて241種類の農薬成分のMRM測定を行ったところ、試料中濃度0.01ppmの定量感度を238種類の農薬で得られた。
- ②選択性は、ほうれん草中のトリアジメノール、オレンジ中のホレート、カズサホス及びキノクラミンで許容範囲を超えていた。
- ③真度の目標値(70～120%)を両添加濃度で満たす農薬は、ばれいしょ230種類、キャベツ211種類、ほうれん草210種類、りんご207種類、オレンジ193種類であった。
- ④併行精度はいずれの農産物でもほぼ良好な結果が得られていた。室内精度は併行精度よりも目標値を満たさない農薬が多かった。0.01ppm添加時に目標値を満たしていない場合が多く、それらの農薬は他の農薬に比べて定量感度を得ることが厳しい農薬であることが多かった。
- ⑤妥当性評価で適合と判定される両添加濃度で真度及び精度の目標値を全て満たす農薬は、ばれいしょ229種類、キャベツ209種類、ほうれん草210種類、りんご200種類、オレンジ192種類であった。5農産物ともにAであった農薬は163種類であり、妥当性を評価した241種類の68%であった。
- ⑥本試験法を用いて、実態調査を野菜・果実39種類134検体で行い、14検体から延べ17種類の農薬が全て残留基準値以下で検出された。輸入品の果実から高頻度に検出された。今後は、妥当性評価された試験法を評価したものと類似の野菜類及び果実類中に適応するため、妥当性評価を継続して行いたい。

文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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、食安発第0124001号、平成17年1月24日、2005
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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ついて、食安発第1115001号、平成19年11月15日、2007
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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、食安発1224第1号、平成22年12月24日、2010