

Table 3. (continued)

Pesticide	Recovery, % and SD												LOD, ng/g
	Carrot ( <i>n</i> = 4, 3) <sup>a</sup>				Banana ( <i>n</i> = 3)				Grapefruit ( <i>n</i> = 5)				
	20 ng/g		100 ng/g		20 ng/g		100 ng/g		20 ng/g		100 ng/g		
Fosthiazate	95	14	81	2	100	8	91	3	83	7	101	4	1.6
Fthalide	106	2	96	5	107	3	101	3	90	5	104	3	1.2
Furametpyr	102	3	99	9	99	5	97	1	100	21	101	10	1.6
Furathiocarb	88	6	73	6	100	8	85	6	108	6	108	6	2.0
Furilazole	94	2	85	6	93	1	96	3	85	12	99	4	1.4
Halfenprox	97	3	103	2	99	6	96	3	97	7	106	4	1.9
Heptachlor	95	8	86	1	90	3	91	4	86	3	91	3	1.2
Heptachlor-epoxide	83	19	88	13	101	3	92	12	95	10	98	5	1.8
Hexaconazole	92	1	93	10	110	5	99	7	92	39	103	4	3.6
Hexazinone	91	6	94	4	106	5	96	4	77	12	87	6	1.9
Hexythiazox	94	33	98	13	110	55	94	5	95	13	100	9	5.7
Indoxacarb-MP	83	9	83	9	86	2	87	6	80	12	96	7	2.1
Iprobenfos	86	4	82	3	95	1	96	3	89	5	98	3	2.3
Iprodione	79	5	78	5	85	5	85	9	105	20	113	6	2.8
Iprovalicarb	93	7	82	3	95	8	97	5	89	6	99	4	2.3
Isazophos	89	5	79	4	93	4	92	2	98	7	101	5	2.3
Isofenphos	93	3	96	4	105	2	97	2	91	7	95	4	1.5
Isoprocarb	50	7	86	3	92	5	96	2	88	6	94	3	0.3
Isoprothiolane	97	6	84	8	101	6	92	5	119	18	100	6	2.2
Isoxathion	90	9	97	6	101	8	95	9	93	8	98	4	2.2
Kresoxim-methyl	94	4	101	2	107	2	94	6	96	17	98	5	1.9
Lactofen	99	7	101	2	104	4	98	0	89	10	108	4	3.1
Lenacil	96	6	96	1	103	4	97	7	93	9	99	7	2.7
Malathion	78	10	78	3	91	8	91	6	97	4	100	6	1.3
Mefenacet	96	4	95	5	108	3	99	1	97	9	112	4	2.6
Mepronil	82	8	76	4	96	4	91	6	98	8	104	4	1.8
Metalaxyl	83	5	82	4	97	6	104	2	88	7	88	2	2.1
Methacrifos	85	9	84	4	87	7	91	2	89	8	93	3	0.4
Methamidophos	91	9	80	6	80	8	73	4	42	9	42	9	4.3
Methidathion	90	5	83	4	94	1	92	3	95	6	103	2	2.3
Methiocarb	95	10	84	2	94	4	97	8	86	5	100	2	2.4
Methoxychlor	85	3	97	4	111	3	93	3	91	7	93	4	2.6
Metolachlor	86	8	98	9	107	3	95	3	95	11	98	2	2.7
Metolcarb	85	3	95	1	102	10	87	5	91	9	97	2	2.2
Metominostrobin E	86	6	80	4	87	1	102	9	96	6	95	5	2.4
Metominostrobin Z	82	7	82	4	92	6	98	4	87	13	88	2	3.5
Metribuzin	95	3	94	4	105	19	87	10	79	11	83	3	3.1
Mevinphos	91	3	96	2	100	5	82	2	86	4	85	8	2.0
Molinate	85	6	93	3	89	5	84	2	90	9	79	5	1.6
Monochlotophos	98	3	98	2	99	6	86	4	51	5	51	11	6.4
Myclobutanil	90	8	95	5	102	8	101	5	95	9	94	7	1.2
Napropamide	75	9	76	2	93	9	95	5	100	9	104	7	1.9

Table 3. (continued)

Pesticide	Recovery, % and SD												LOD, ng/g
	Carrot ( <i>n</i> = 4, 3) <sup>a</sup>				Banana ( <i>n</i> = 3)				Grapefruit ( <i>n</i> = 5)				
	20 ng/g		100 ng/g		20 ng/g		100 ng/g		20 ng/g		100 ng/g		
Nitrothal-isopropyl	87	7	85	3	96	12	98	2	94	9	102	2	1.6
Norflurazon	88	8	96	3	102	1	96	5	65	38	99	11	2.5
Ormethoate	91	8	85	5	83	7	71	5	47	9	41	10	4.2
Oxadiazon	99	2	94	4	106	1	98	2	96	13	101	6	1.2
Oxadixyl	78	7	82	5	93	9	93	7	72	6	74	7	1.6
Oxyfluorfen	92	13	95	7	96	9	105	13	109	22	108	7	1.6
Paclobutrazol	92	5	96	5	101	2	96	4	92	9	98	4	1.9
Parathion	94	13	96	6	102	1	97	8	99	11	101	4	2.6
Parathion-methyl	100	4	94	6	101	2	93	3	92	3	102	7	1.6
Penconazole	82	5	98	5	104	5	96	4	91	3	91	4	1.8
Pencycuron	88	8	97	3	108	10	95	6	91	9	90	5	2.0
Pendimethalin	88	2	98	5	104	7	87	5	92	7	97	2	2.5
Permethrin	87	10	79	2	91	10	92	6	100	8	97	5	2.9
Phenothrin	82	8	84	3	80	7	91	5	91	8	87	3	2.9
Phenthoate	94	4	95	4	104	6	94	2	98	8	111	4	1.5
2-Phenylphenol	86	5	99	2	105	5	86	3	85	4	89	4	2.3
Phorate	82	9	98	2	103	16	86	3	95	11	88	5	2.0
Phosalone	96	6	94	3	108	8	93	1	103	6	113	5	2.2
Phosmet	90	10	80	6	77	8	61	10	91	9	102	4	2.3
Phosphamidon	94	9	82	3	87	7	95	2	86	11	96	4	3.6
Picolinafen	80	7	79	7	95	5	92	7	90	8	107	2	2.6
Piperophos	82	11	107	7	111	9	93	2	103	9	107	3	2.7
Pirimicarb	87	8	78	1	97	1	98	3	87	5	92	4	2.0
Pirimiphos-ethyl	93	7	95	8	102	1	92	4	89	4	90	3	2.4
Pirimiphos-methyl	81	6	81	5	90	4	97	3	93	6	100	4	1.5
Pretilachlor	81	8	101	5	106	4	92	3	99	5	99	8	2.4
Prochloraz	84	5	84	6	109	17	90	6	92	31	93	17	2.9
Procymidone	99	7	87	5	96	6	95	2	87	17	104	4	1.1
Profenofos	96	9	97	3	100	5	95	8	112	8	110	5	2.8
Promecarb	81	8	82	2	94	7	98	4	88	5	95	2	0.7
Prometryn	87	3	79	3	100	8	96	4	90	5	95	3	2.4
Propachlor	81	8	84	4	90	7	94	1	90	4	92	3	2.3
Propanil	95	6	93	7	107	6	93	2	92	8	98	4	1.4
Propaphos	87	4	81	3	93	5	92	5	97	3	101	3	1.8
Propargite	96	10	85	6	NC	—	89	2	89	12	103	5	9.2
Propham	80	14	81	9	99	3	94	3	95	4	91	4	1.3
Propiconazole	80	13	88	3	95	6	91	4	93	14	101	4	1.9
Propoxur	94	10	87	4	93	5	94	3	86	4	98	4	0.9
Propyzamide	97	3	97	3	105	1	103	3	100	11	108	4	0.6
Prothiofos	93	9	94	3	100	3	99	5	99	11	106	4	1.2
Pyraclofos	95	6	97	1	111	6	92	6	94	8	104	6	2.3
Pyraflufen-ethyl	83	6	93	3	117	3	94	4	111	5	111	8	2.3

Table 3. (continued)

Pesticide	Recovery, % and SD												LOD, ng/g
	Carrot ( <i>n</i> = 4, 3) <sup>a</sup>				Banana ( <i>n</i> = 3)				Grapefruit ( <i>n</i> = 5)				
	20 ng/g		100 ng/g		20 ng/g		100 ng/g		20 ng/g		100 ng/g		
Pyrazophos	89	1	97	3	107	6	93	2	97	6	106	4	1.1
Pyributicarb	96	7	82	4	97	5	90	2	98	7	107	4	1.9
Pyridaben	83	5	99	3	108	9	83	3	96	20	101	2	2.0
Pyridaphenthion	91	4	98	5	109	3	99	6	104	7	107	5	2.5
Pyrifenox E	79	16	75	2	98	2	92	5	102	25	101	5	2.1
Pyrifenox Z	72	10	80	4	107	10	93	4	78	10	104	8	1.4
Pyrimethanil	88	6	95	5	106	4	93	1	81	5	87	3	1.8
Pyrimidifen	81	4	85	3	84	6	93	6	93	8	103	4	2.0
Pyriminobac-methyl E	83	6	99	3	111	4	93	4	93	5	106	4	3.6
Pyriminobac-methyl Z	80	8	100	5	107	3	93	2	96	8	100	3	3.3
Pyriproxyfen	86	4	85	6	91	4	92	2	95	15	104	2	1.1
Quinalphos	91	9	82	4	92	7	96	3	91	6	96	4	0.5
Quinoclamine	91	3	86	10	132	5	95	6	84	9	79	8	3.3
Quinoxifen	87	9	80	4	93	2	92	6	101	4	98	6	1.5
Quintozene	91	9	80	9	90	2	90	2	92	7	95	4	0.8
Silafiuofen	83	6	88	3	88	3	93	6	84	13	96	2	1.7
Simazine	88	4	96	5	111	6	92	2	86	4	85	3	2.5
Simeconazole	88	12	81	2	92	4	94	1	100	9	94	4	2.4
Simetryn	92	5	95	9	103	10	94	2	86	6	90	5	2.6
Sulprofos	83	5	96	5	101	2	94	2	96	8	111	1	2.4
Tebuconazole	96	7	96	5	105	5	95	4	96	7	108	6	2.5
Tebufenpyrad	82	3	74	6	95	4	88	7	97	12	92	4	2.1
Tecnazene	99	12	84	2	88	1	91	3	101	9	96	4	0.8
Tefluthrin	88	4	83	4	91	2	96	3	83	7	89	1	0.5
Terbacil	76	4	84	3	93	6	101	4	81	7	91	5	1.3
Terbufos	92	6	93	3	102	4	94	2	90	4	93	3	1.9
Terbutryn	88	3	96	11	102	3	94	3	94	6	94	3	1.3
Tetrachlorvinphos	89	7	84	4	90	5	86	4	93	8	98	4	1.8
Tetraconazole	85	13	95	4	90	12	99	11	64	10	91	2	0.8
Tetradifon	92	6	87	6	94	4	95	3	90	12	112	4	0.9
Thenylchlor	91	8	98	5	109	0	98	3	106	7	110	3	2.6
Thiazopyr	74	47	109	10	89	13	106	7	78	12	87	13	3.5
Thifuzamide	89	4	95	4	105	4	103	8	104	14	111	7	0.8
Thiobencarb	89	6	95	7	96	2	95	4	93	6	85	3	1.0
Thiometon	79	1	79	3	85	1	87	1	87	2	87	3	1.4
Tolclofos-methyl	94	4	95	1	100	10	93	3	93	9	96	5	1.1
Tralomethrin	102	2	98	1	102	3	94	5	101	9	96	2	2.0
Triadimefon	90	7	98	6	110	2	97	1	93	5	96	4	1.8
Triadimenol	94	16	91	7	95	10	103	3	99	26	93	7	4.9
Tri-allate	90	6	102	6	105	8	92	3	86	4	93	2	1.0
Triazophos	92	3	95	4	106	3	98	5	99	5	105	4	2.4
Tribuphos	91	7	98	11	113	8	92	4	88	11	104	8	1.4

Table 3. (continued)

Pesticide	Recovery, % and SD												LOD, ng/g
	Carrot (n = 4, 3) <sup>a</sup>			Banana (n = 3)			Grapefruit (n = 5)						
	20 ng/g	100 ng/g		20 ng/g	100 ng/g		20 ng/g	100 ng/g					
Trifloxystrobin	90	9	93	7	100	16	88	5	117	37	116	16	2.5
Triflumizole	91	5	87	4	96	6	90	4	89	11	103	7	0.9
Trifluralin	87	4	96	3	97	6	90	4	85	6	88	1	3.1
Uniconazole P	98	5	93	6	107	4	99	4	98	12	104	8	1.1
Vinclozolin	96	7	93	7	100	7	94	3	99	12	96	3	1.3
XMC	88	7	96	3	103	4	91	2	92	6	93	7	2.3
Xylycarb	95	5	97	2	62	54	93	3	91	11	95	3	2.2
4,4'-dichlorobenzophenone (Dicofol decomposed)	125	20	98	5	136	33	122	17	111	18	118	12	3.7
Alachlor	NC	—	83	7	84	27	82	11	NC	—	80	51	13.3
Captafol	NC	—	NC	—	NC	—	NC	—	NC	—	14	30	11.9
Captan	NC	—	NC	—	NC	—	NC	—	NC	—	77	5	10.8
Carbosulfan	69	12	45	4	36	7	38	15	23	16	24	11	4.6
Chinomethionat	NC	—	4	1	NC	—	NC	—	27	2	33	5	0.5
Chlorothalonil	13	7	47	2	NC	—	NC	—	48	5	67	6	1.0
Flufenoxuron	19	38	105	8	NC	—	NC	—	36	40	88	17	18.8
Formothion	46	31	65	5	53	22	NC	—	69	7	69	4	3.2
Probenazole	NC	—	7	12	NC	—	NC	—	NC	—	17	25	13.5

<sup>a</sup> n = Number of trials.

<sup>b</sup> NC = Not calculated because of low sensitivity or matrix interference.

<sup>c</sup> — = No data

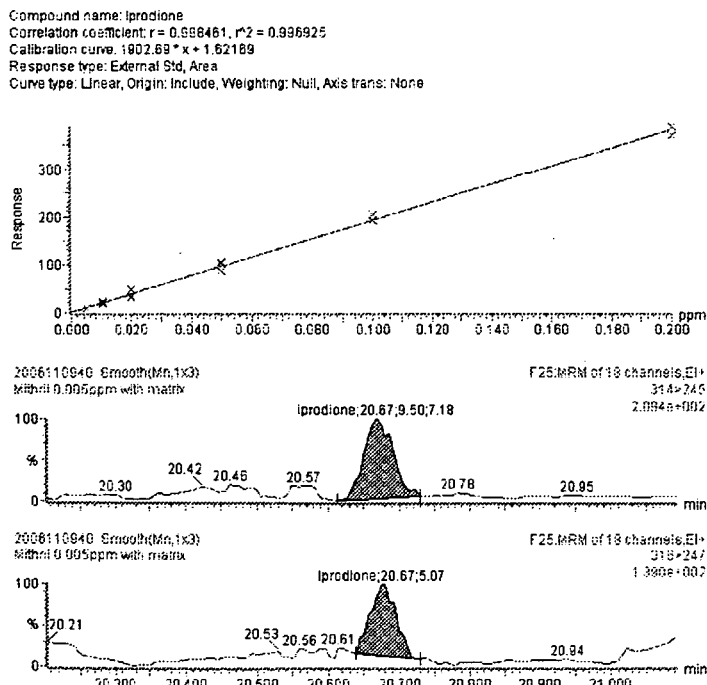


Figure 3. Calibration graph and MRM chromatograms of iprodione at a level of 5 ng/mL with grapefruit matrix.

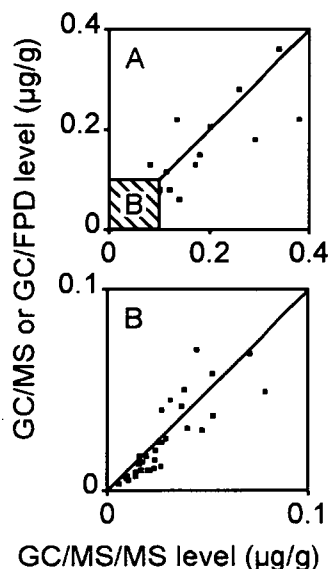
Table 4. Summary of monitoring results

Pesticide	Detected No. <sup>a</sup>	Amt range, ng/g
Acephate	2	18.5-179
Azoxystrobin	8	5.4-77.9
BHC	1	139
Bifenthrin	4	18.5-65.0
Bitertanol	7	3.1-52.3
Bromopropylate	1	6.7
Buprofezin	3	3.5-4.2
Captan	1	70.5
Carbaryl	1	258
Carbofuran	2	10.3-12.4
Chinomethionat	2	0.5-9.8
Chlorfenapyr	2	8.4-20.2
Chlorobenzilate	1	2.5
Chlorothalonil	4	1.2-16.0
Chlorpyrifos	19	3.9-121
Chlorpyrifos-methyl	1	4.4
Chlorthal-dimethyl	2	2.1-15.5
Cyanophos	1	19.0
Cyhalothrin	1	8.9
Cypermethrin	6	3.8-290
Cyprodinil	4	1.9-22.2
DDT	9	0.8-15.8
Deltamethrin	5	2.4-18.3
Diazinon	1	1.8
Dichlorvos	2	10.4-81.3
Dicloran	1	2.3
Dicofol	2	10.0-25.8
Diethofencarb	1	5.6
Diphenyl	1	6.2
Diphenylamine	1	7.0
Endosulfan	1	59.8
Etoazole	2	2.9-3.0
Fenitrothion	1	26.6
Fenobucarb	1	114
Fenpropathrin	2	65.2-78.8
Fenvalerate	2	6.2-52.1
Fludioxonil	2	6.2-203
Flufenoxuron	2	20.0-50.7
Flusilazole	2	7.9-15.2
Flutolanil	1	31.1
Fluvalinate	3	3.6-5.4
Fosthiazate	4	4.0-12.2
Fthalide	4	7.8-10.4
Hexaconazole	1	10.9
Indoxacarb-MP	1	4.0
Iprodione	9	9.6-1420

Table 4. (continued)

Pesticide	Detected No. <sup>a</sup>	Amt range, ng/g
Kresoxim-methyl	6	6.2-219
Malathion	4	2.4-9.6
Metalaxyl	3	3.1-7.1
Methamidophos	1	26.9
Methidathion	6	14-732
Metominostrobin	1	79.6
Myclobutanil	1	6.4
Omethoate	2	8.0-13.2
Oxadixyl	3	3.0-16.2
Paclobutrazol	1	5.4
Parathion-methyl	1	8.8
Pencycuron	1	6.1
Phenthoate	3	1.6-5.6
2-Phnylphenol	1	3.0
Prochloraz	2	112-693
Procymidone	8	2.3-340
Profenofos	1	13.6
Prometryn	1	5.9
Propargite	1	148
Prothiofos	5	5.6-19.4
Pyrimethanil	5	2.3-510
Pyriproxyfen	2	13.0-16.0
Quinalphos	2	0.6-4.0
Tefluthrin	5	0.5-3.2
Tetraconazole	1	7.2
Thifluzamide	1	0.8
Tolclofos-methy	1	2.0
Triadimefon	1	5.2
Triadimenol	2	23.3
Trifloxystrobin	1	15.2
Triflumizole	3	1.9-494
Xylylcarb	1	5.4

<sup>a</sup> Number of samples in which the pesticide was detected.



**Figure 4.** Comparison of residue levels measured by GC-QqQ/MS and GC-MS or GC-FPD. B corresponds to the hatched square in A.

#### Application of the Method for Monitoring

In order to estimate the reliability of the GC/QqQ/MS analysis for the routine analysis, 173 retail samples of fruits, vegetables, and rice from the local market were analyzed. Overall, 211 pesticide residues ranging from 0.5 to 1420 ng/g were detected in 105 samples, and the concentrations of detected residues were mainly less than 100 ng/g. Table 4 summarizes the monitoring results. Seventy-eight different pesticides were detected. In terms of Japanese regulation, 202 residues were within the MRL control, 9 other residues were below the uniform limit, and there was one illegal case, benzene hexachloride (BHC). The 120 residues were also monitored by GC-FPD or GC/MS as a crosscheck. These conventional detectors could not find 65 residues because of low concentrations. GC/MS frequently suffered from interferences, and GC-FPD has poor sensitivities compared with GC/QqQ/MS. There was no false-positive or -negative detection for the other 55 residues that could be detected with the 2 systems. Figure 4 shows the comparison of residue amounts measured by both detectors ( $\leq 0.4$   $\mu\text{g/g}$ ). Conventional detectors and GC/QqQ/MS showed similar levels, and the correlation coefficient ( $r^2$ ) value was 0.8467. It was concluded that the proposed method could be used for routine analysis of 260 compounds with a single injection and achieved a lower level of detection than other methods.

#### Conclusion

It has been shown that GC/QqQ/MS enables detection of 260 analytes simultaneously at the 0.01  $\mu\text{g/g}$  level. Because of high sensitivity and selectivity achieved by GC/QqQ/MS,

results of the recovery tests indicate good repeatability despite a slow scan time. The combination of quick extraction and simultaneous analysis for a large number of pesticides enables rapid and efficient monitoring. It was confirmed that the proposed method was suitable for routine residue monitoring, and it reduced analysis time considerably.

In this method, the number of functions almost reached the limits of software abilities. The peaks in the crowded periods showed that the number of MRM ions almost reached the limits of simultaneous analysis. It would be feasible to make a small increase of the target compounds by using 32 functions. Further expansion of the method should be accomplished by speeding up data acquisition.

#### References

- (1) Notification No.497-499 (November 29, 2005) *Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods*, Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan
- (2) Fillion, J., Sauv e, F., & Selwyn, J. (2000) *J. AOAC Int.* **83**, 698-713
- (3) Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., & Schenck, F.J. (2003) *J. AOAC Int.* **86**, 412-431
- (4) Saito, Y., Kodama, S. & Matsunaga, A., (2004) *J. AOAC Int.* **87**, 1356-1367
- (5) Hirahara, Y., Kimura, M., Inoue, T., Uchikawa, S., Otani, S., Haganuma, A., Matsumoto, N., Hirata, A., Maruyama, S., Iizuka, T., Ukyo, M., Ota, M., Hirose, H., Suzuki, S. & Uchida, Y. (2005) *J. Health Sci.* **51**, 617-627
- (6) Okihashi, M., Kitagawa, Y., Akutsu, K., Obana, H., & Tanaka, Y. (2005) *J. Pestic. Sci.* **30**, 368-377
- (7) Okihashi, M., Kitagawa, Y., Obana, H., Tanaka, Y., Yamagishi, Y., Sugitate, K., Saito, K., Kubota, M., Kanai, M., Ueda, T., Harada, S., & Kimura, Y. (2007) *Food* **1**, 101-110
- (8) Sheridan, R.S., & Meola, J.R. (1999) *J. AOAC Int.* **82**, 982-990
- (9) Gam n, M., Lle o, C., Ten, A., & Mochol , F. (2001) *J. AOAC Int.* **84**, 1209-1216
- (10) Martínez Vidal, J.L., Arrebola, F.J., & Mateu-Sánchez, M. (2002) *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **16**, 1106-1115
- (11) González Rodríguez, M.J., Garrido Frenich, A., Arrebola, F.J., & Martínez Vidal, J.L. (2002) *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **16**, 1216-1224
- (12) Garrido Frenich, A., González Rodríguez, M.J., Arrebola, F.J., & Martínez Vidal, J.L. (2005) *Anal. Chem.* **77**, 4640-4648
- (13) Martínez Vidal, J.L., Arrebola Li banas, F.J., González Rodríguez, M.J., Garrido Frenich, A., & Fernández Moreno, J.L. (2006) *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **20**, 365-375
- (14) Walorczyk, S., & Gunsowski, B. (2006) *J. Chromatogr. A* **1128**, 236-243
- (15) Emey, D.R., Gillespie, A.M., Gilvydis, D.M., & Poole, C.F. (1993) *J. Chromatogr. A* **638**, 57-63

厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)

## 検査機関の信頼性確保に関する研究

平成 17 年度～平成 19 年度

研究成果に関する刊行物

学会発表

# 一日分析に主眼を置いた残留農薬分析法の検討

大阪府立公衆衛生研究所

○起橋雅浩、北川陽子、阿久津和彦、

尾花裕孝、田中之雄

〔目的〕食品衛生法の一部を改正する法律が公布され、規格、基準の見直しや、監視及び検査体制が強化されることになった。この為、農薬等の残留分析部門では、より多数で広範囲の項目について分析することが求められる。しかし、実際問題として全ての農薬を分析対象としていては、1検体当たりの労力が膨大になり、限られた時間と人員では結果的に検体数をこなすことができない。現実的な対処としては、農薬の使用実態や、残留性、検出報告例等を参考にした項目を選択することが考えられる。そして分析方法を簡素にし、分析労力を減らすことに反比例して、検体数を増やすことができるであろう。今回検討した方法は、分析時間の短縮に主眼を置き、1日で試料を測定できる状態にすることを目標にした。そのため、使い捨てのキャップ付きPP製50mL遠心管を使用してホモジナイズと塩析脱水を行い、一度の遠心分離で抽出液を得ている。

〔方法〕フードプロセッサーで均一化した試料10gをキャップ付きPP製50mL遠心管にとり、アセトニトリル20mL、酢酸0.1mLを加えてホモジナイザーで1分間攪拌抽出する。これに無水硫酸マグネシウム4gと塩化ナトリウム1gを加え、フタを閉めて手で激しく振盪する。その後6000rpm、10分間遠心し上清を抽出液とする。抽出液16mLを0.5%酢酸を含むアセトニトリル/トルエン(3:1)30mLでコンディショニングしたグラファイトカーボン/PSA二層式固相抽出カラム(500mg/500mg)に負荷し、さらにアセトニトリル/ト

ルエン(3:1)50mLで溶出させる。溶出液を40°C以下で減圧濃縮後10%アセトン/n-ヘキサン8mLに溶解し、試験液とする。試料と試験液の関係は最終的に1g/mL相当となる。測定にはリン系農薬用にGC-FPD(島津GC-17A/カラム:DB-1701)、塩素系、ピレスロイド系農薬用に負化学イオン化法GC-MS(島津QP-2010/カラム:DB-5)、その他農薬にイオントラップ型GC-MS(ThermoPORALIS Q/カラム:Rtx-5ms)を用いて測定した。

〔結果〕リンゴ、バナナ、グレープフルーツ、オレンジ、パプリカ、レタス、トマト、ブロッコリー、ハウレンソウの農産物を用いて、リン系、塩素系、ピレスロイド系、カーバメート系農薬等合計約180種を試料中で0.05または0.1ppmとなるように添加し、添加回収実験を行った。一部の組合わせで回収されなかったり妨害を受けて測定できなかった農薬があったが、170以上の農薬で回収率は70~105%の範囲に収まり、RSDは25%以下であった。分析の迅速性は簡便性に左右され、容器の移し替え、使用器具の洗浄、遠心分離、濃縮等の基本的操作を減らしたことにより、かなりの省力化が達成できた。実際に一人で朝から作業を行い、均一化済み試料から12検体分を分析して、午後からは測定を始めることができ、翌日には全てのデータが得られた。律速段階になる工程は濃縮のみで、検体数や測定機器の数によっては、当日に結果を出すことも可能であると思われる。



# 簡易抽出法による GC/MS/MS を用いた 柑橘類中の防カビ剤の分析

大阪府立公衆衛生研究所

○起橋雅浩、北川陽子、高取 聡、田中之雄

[目的] 防カビ剤は柑橘類等の貯蔵に際して用いられる食品添加物である。これらの分析方法は、酸とアルカリを用いた液-液分配による複雑な抽出と、液体クロマトグラフィーの蛍光検出器と UV 検出器を用いた測定が一般的である。柑橘類は妨害成分が多く検出され、特に UV 検出器で測定する Imazalil は測定が困難になりがちである。JAOAC Int. 86,412-431(2003) に掲載された M. Anastassiades らの論文は、「Quick、Easy、Cheap、Effective、Rugged and Safe (QuEChERS)」と題して簡素な残留農薬分析法を提案しており、細切均一化が済んだ試料であれば 1 人で 6-12 検体を 1 時間以内で処理できる、としている。そこで、今回この QuEChERS 法を防カビ剤の分析に適用し、分析操作の簡易化と GC/MS/MS による測定を試みたので報告する。

[方法] フードプロセッサーで均一化した試料 10g をキャップ付き PP 製 50mL 遠心管にとり、安定同位体の内部標準品を各 10  $\mu$ g 加える。その後アセトニトリル 10mL を加えて手で 1 分間激しく振盪抽出する。これに無水硫酸マグネシウム 4g と塩化ナトリウム 1g を加え、フタを閉めて手で激しく振盪する。その後 3000rpm、10 分間遠心し上清 8mL を遠心可能なフタ付き試験管に移す。そこへ無水硫酸マグネシウム 1.2g と PSA 粉末 0.2g を加え、手でよく振盪する。再度 3000rpm、10 分間遠心し、上清を試験液とする。これを GC/MS/MS で測定した。

ガスクロマトグラフ / 質量分析計

Thermo PORALIS Q (イオントラップ型 / EI)

注入口: 250°C、イオン源: 200°C

カラム: RESTEK Rtx-5ms 30m  $\times$  0.25mm,

0.25  $\mu$ m, キャリアガス流量: 1.5mL/min (He)

カラム温度: 60°C (1分) -8°C / 分 -280°C (5分)

	precursor ion(m/z)	monitor ion (m/z)
Diphenyl	154	152
o-Phenylphenol	170	141
Thiabendazole	174	130
Imazalil	215	173
Thiabendazole- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	180	136
Imazalil-d <sub>6</sub>	220	173

[結果] 輸入品のオレンジ、レモン、国産のミカンを用いて、Diphenyl、o-Phenylphenol、Thiabendazole、Imazalil を試料中で 1ppm となるように添加し、添加回収実験を行った。輸入柑橘類では、元来防カビ剤が含まれている場合が多く、Thiabendazole や Imazalil の添加実験は良い値を得られなかった。これは凍結していた試料を解凍した際に、試料の均一性が失われていた為でないかと推測された。そこで、防カビ剤の使用されていない国産ミカンを用いて添加回収実験 (n=5) を行った結果、安定同位体を内部標準品を使った Thiabendazole と Imazalil の平均回収率はそれぞれ 93、89% となり、RSD は 14、4% であった。また、GC/MS での測定では妨害成分の影響を受け易かったが、GC/MS/MS を用いたことにより良好なクロマトグラムが得られた。今後は Diphenyl と o-Phenylphenol の安定同位体を内部標準品に用いて検討する予定である。

# GC/MSによる農畜水産物中の残留農薬一斉分析と トリプルデータベース相対定量法の比較

神戸市環境保健研究所 ○上田泰人、伊藤光男、小島信彰、田中敏嗣

西川計測株式会社 山上 仰、中島晋也

横河アナリティカルシステムズ株式会社 瀧川義澄

## 1. 目的

農薬等のポジティブリスト制への対応が求められており、その一助として、近年 Scan 法による定性定量を目的とした GC/MS 分析解析ソフトが開発されている。トリプルデータベース相対定量法 (NAGINATA、西川計測、TDB 法と略す) は、農薬成分等の保持時間、マススペクトル及び検量線情報がデータベース化され定性定量ができるとされている。今回、同一試料を SIM 法と TDB 法で測定し比較したので報告する。

## 2. 方法

### 1) 畜水産物

①対象農薬：TDB 法に登録済み 13 種 (アラジン、アクロール、イゾプロチオラン、エリジアゾール、クロルピリホスメチル、クロロアブ、クレキシムメチル、カルボキシ、クロルフェニル、ジスルホトロン、ジフェニアジン、ジフルフェニル、シマジン) 及び当所で登録した 7 種 (エチン等)

②試料調製：牛の筋肉、牛の肝臓、サケ、エビ、鶏卵、牛乳に農薬を各 0.1  $\mu$ g/g 添加し、H16.8 厚生労働省通知「畜水産物中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法 (案)」で調製した。

③GC/MS 測定 GC/MS=Agilent5973N

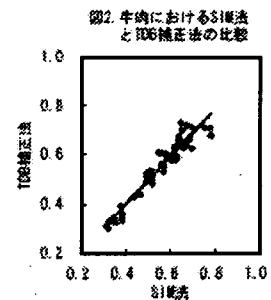
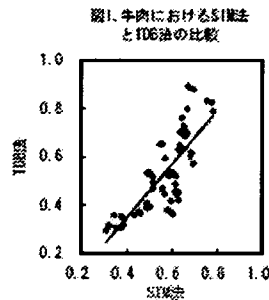
	SIM 法	TDB 法 (登録済み)
柱	DB-3MS, 0.25mm $\times$ 30m $\times$ 0.25 $\mu$ m	HP-3MS, 0.25mm $\times$ 30m $\times$ 0.25 $\mu$ m
炉	57C (min)-25/-125(0)	70(2)-25/-150(0)-3/-200(0)
温度	-10/-300(3.5)	-8/-280(10)-20/-300(5)

TDB 法では、標準物質を用いなくても相対定量は可能であるが、本検討では標準物質も同時に測定し補正した (TDB 補正法)。

2) 農産物：市場流通品で農薬の検出された農産物を、「農産物中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法 (案)」で調製したものを、1) ③と同様に測定した。

## 3. 結果

1) 畜水産物：牛肉の SIM 法と TDB 法、SIM 法と TDB 補正法の値の相関図を図 1、図 2 に示す。TDB 法は SIM 法より若干低い値を示し、濃度範囲は SIM 法の 0.60~1.33 倍で、相関係数は  $R^2=0.63$  であった。TDB 補正法は、濃度範囲が SIM 法の 0.87~1.13 倍、 $R^2=0.92$  と向上した。牛の肝臓、サケ、エビ、鶏卵、牛乳においても TDB 補正法で  $R^2$  が改善された。



2) 農産物：農産物でも畜水産物同様に、SIM 法と TDB 補正法は、数値がよく一致した。

## 4. まとめ

Scan 法及び GC/MS 分析・解析ソフトウェアを用いた定性能力・定量性について 20 農薬について検証した。本法は定性能力が十分であるとともに、定量性においても標準物質を測定し補正を行えば正確な値が得られることが示唆された。今後農薬、農産物を拡大し、さらに検討をしていきたい。

# GC/MS と GC/FPD を用いた

## 240 農薬の簡易分析法の開発

○起橋雅浩、北川陽子、阿久津和彦、尾花裕孝、田中之雄  
大阪府立公衆衛生研究所

はじめに

食品衛生法の一部を改正する法律が公布され、規格、基準の見直しや、監視及び検査体制が強化されることになった。この為、農薬等の残留分析部門では、より多数で広範囲の項目について分析することが求められる。しかし、実際問題として全ての農薬を分析対象としていては、1検体当たりの労力が膨大になり、限られた時間と人員では結果的に検体数をこなすことができない。現実的な対処としては、農薬の使用実態や、残留性、検出報告例等を参考にした項目を選択することが考えられる。そして分析方法を簡素にし、分析労力を減らすことに反比例して、検体数を増やすことができるであろう。今回検討した方法は、分析時間の短縮に主眼を置き、1日で試料を測定できる状態にすることを目標にした。そのため、使い捨てのキャップ付き PP 製 50mL 遠心管を使用してホモジナイズと塩析脱水を行い、一度の遠心分離で抽出液を得ている。昨年の第 27 回農薬残留分析研究会では約 100 種類の農薬について報告したが、さらに 200 種以上の農薬について検討を行ったので報告する。

### 器具、試薬

抽出用遠心管：Becton Dickinson 製 BLUE MAX 50 mL ポリプロピレンコニカルチューブ

精製カラム：Supelco 製 Supelclean ENVI-Carb/PSA (500 mg / 500 mg)

ホモジナイザー：日立製作所製 HG30 遠心分離機：日立製作所製 Himac SCR 20B

農薬標準品：和光純薬、林純薬、関東化学、Riedel de Haen、Dr. Ehrenstorfer G.m.b.H. より購入した農薬標準品をアセトンで溶解し、1000ppm 液を作成した。各農薬標準液を適宜グループ化して混合し、10～40 数種類入りの 20～100ppm 混合溶液を作成した。

### 装置

ガスクロマトグラフ：島津 GC-17A (FPD)

注入口：250℃、検出器：250～280℃

カラム：J&W DB-1701 30m × 0.32mm, 0.25um、キャリアガス流量：2.0mL/min (He)

カラム温度：80℃ (2分) -20℃ / 分 -180℃ -4℃ / 分 -260℃ -10℃ / 分 -280℃ (5分)

ガスクロマトグラフ / 質量分析計 : Thermo PORALIS Q (イオントラップ型 / EI)

注入口 : 250°C、トランスファーライン : 280°C、イオン源 : 200°C

カラム : RESTEK Rtx-5ms 30m × 0.25mm, 0.25um、キャリアガス流量 : 1.5mL/min (He)

カラム温度 : 60°C (1分) -8°C / 分 -280°C (5分)

ガスクロマトグラフ / 質量分析計 : 島津 GCMS-QP2010 (四重極型 / NCI)

注入口 : 250°C、インターフェイス : 250°C、イオン源 : 200°C、反応ガス : メタン

カラム : J&W DB-5 30m × 0.25mm, 0.25um、キャリアガス流量 : 1.7mL/min (He)

カラム温度 : 60°C (1分) -20°C / 分 -170°C -6°C / 分 -300°C (7分)

### 分析方法

フードプロセッサーで均一化した試料 10g をキャップ付き PP 製 50mL 遠心管にとり、アセトニトリル 20mL、酢酸 0.1mL を加えてホモジナイザーで 1 分間攪拌抽出する。これに無水硫酸マグネシウム 4g と塩化ナトリウム 1g を加え、フタを閉めて手で激しく振盪する。その後 3000rpm、10 分間遠心し上清を抽出液とする。抽出液 16mL を 0.5% 酢酸を含むアセトニトリル / トルエン (3 : 1) 30mL でコンディショニングしたグラファイトカーボン / PSA 二層式固相抽出カラム (500mg/500mg) に負荷し、さらにアセトニトリル / トルエン (3 : 1) 50mL で溶出させる。溶出液を 40°C 以下で減圧濃縮後 10% アセトン / n-ヘキサン 8mL に溶解し、試験液とする。試料と試験液の関係は最終的に 1g/mL 相当となる。(分析工程図解参照) 測定はリン系農薬用に GC-FPD、塩素系、ピレスロイド系農薬用に負化学イオン化法 GC-MS、それ以外の農薬用にイオントラップ型 GC-MS を用いて測定した。

### 添加回収実験

キャップ付き PP 製遠心管に入れた試料 10g に、リン系、塩素系、ピレスロイド系、カーバメート系農薬等を、0.05、0.1、0.2ppm となるように添加し、30 分以上放置してから分析を開始した。定量にはブランク抽出液で希釈した標準品を用いた。

### 結果及び考察

リンゴ、バナナ、グレープフルーツ、オレンジ、パプリカ、レタス、トマト、ブロッコリー、ハウレンソウ、ナスの農産物を用いて、リン系、塩素系、ピレスロイド系、カーバメート系農薬等合計約 260 種の添加回収実験を行った。今回、検疫所の平成 17 年度輸入食品等モニタリング計画に挙げられた農薬の適否を調査すべく、Chlordane 以外の 199 農

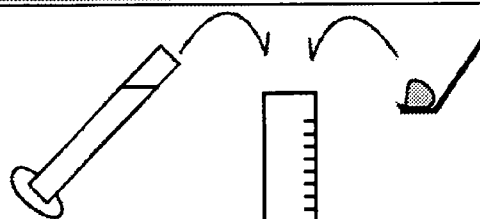
## 分析工程図解

### Step 1

検体をフードプロセッサーで均一化

### Step 2

均一化した試料10gをPP製遠心管へ採取し、  
酢酸0.1mLとアセトニトリル20mLを加える。



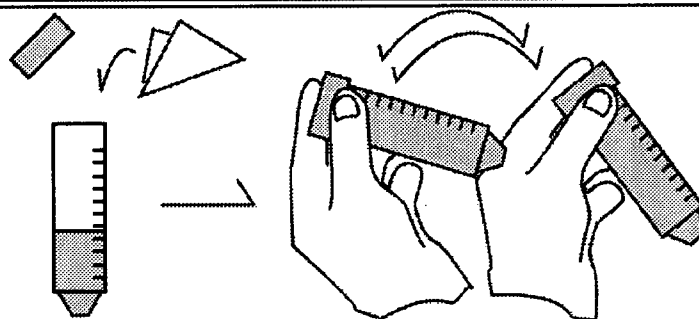
### Step 3

ホモジナイザーで約1分間攪拌抽出を行う。



### Step 4

塩化ナトリウム1gと  
硫酸マグネシウム4gを加え、  
素早くフタをして  
約1分間激しく振盪する。



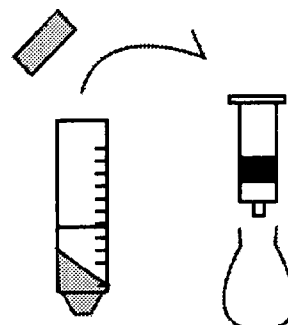
### Step 5

3000rpmで10分間遠心分離を行う。

### Step 6

アセトニトリル層16mLをENVI-Carb/PSAに負荷し、  
50mLアセトニトリル/トルエン (3:1) で溶出する。

#ENVI-Carb/PSAはあらかじめ  
アセトニトリル/トルエン/酢酸 (150:50:1) 30mLで  
コンディショニングしておく。

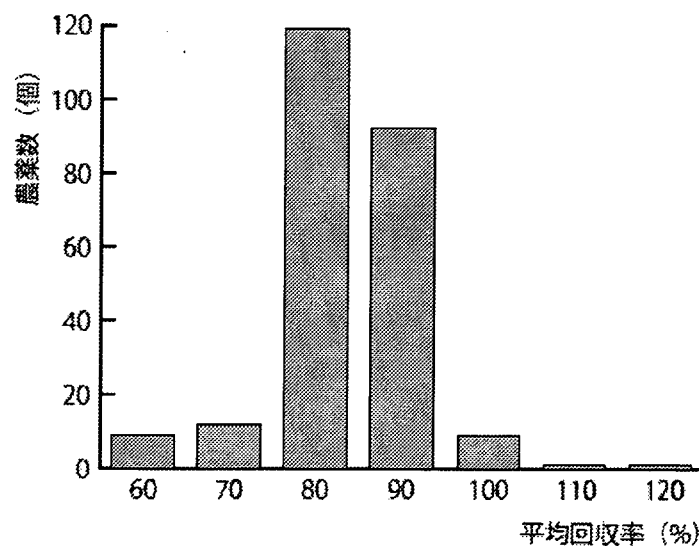


### Step 7

溶出液をエバポレーターで濃縮し、アセトン/n-ヘキサン (1:9) で8mLに定容する。

薬も測定項目に加えた。一部の農薬は GC/MS (EI) での感度が低いか、あるいはピークを確認できない為、測定できなかった。また、Chinomethionate、Clodinafop propargyl、Flumiclorac pentyl、Pyraflufen ethyl は回収率が 50% 未満になり、この分析方法には適さないと考えられた。これら以外でも、一部の試料と農薬の組み合わせで回収されなかったり、妨害を受けて測定できなかった事例があったが、今回測定可能であった 243 農薬の 95% で回収率は 70 ~ 120% の範囲に収まり、また RSD が 25% 以上になった農薬も 5% 程度であった。各農薬毎の平均回収率の分布を図に示したが、60、120% 台を示したものは一部の分解し易い有機リン系農薬や本来 GC 分析に不向きなカーバメート系農薬等であった。(測定農薬一覧参照) 検疫所のモニタリング計画の測定対象のうち、182 農薬は測定可能であった。

分析の迅速性は簡便性に左右され、容器の移し替え、使用器具の洗浄、遠心分離、濃縮等の基本的操作を減らしたことにより、かなりの省力化が達成できた。キャップ付き PP 製 50mL 遠心管を使うことにより、ホモジナイズ、塩析脱水、遠心分離を短時間で行うことができる。実際に一人で朝から作業を行い、均一化済み試料から 12 検体分を分析して、午後からは測定を始めることができ、翌日には全てのデータが得られた。ただし、100 を超える数の農薬の GC/MS での定量解析は容易ではなく、GC/FPD のようなチャート紙 1 枚で確認できる手段は非常に有用であると感じられた。分析作業全体では、律速段階になる工程は精製と濃縮のみで、検体数や測定機器の数によっては、当日に結果を出すことも可能であると思われる。今後は GC/MS/NCI での測定対象農薬を増やし、EI で測定困難であった農薬を追補検討していく予定である。



243農薬の平均回収率分布図

# 測定農薬一覧

## 四重極型GC/MSによるNCIで測定

28農薬

α-BHC  
 β-BHC  
 γ-BHC  
 δ-BHC  
 pp'-DDE  
 pp'-DDD  
 op'-DDT  
 pp'-DDT  
 Aldrin  
 Dieldrin  
 Endrin  
 Captafol  
 Captan  
 Chlorobenzilate  
 Chlorothalonil  
 Dicofof  
 Heptachlor  
 Heptachlor-epoxide  
 Procymidone  
 Cyfluthrin  
 Cyhalothrin  
 Cypermethrin  
 Deltamethrin  
 Fenvalerate  
 Flucythrinate  
 Fluvalinate  
 Permethrin  
 Tefluthrin

## GC/FPDで測定

66農薬

Acephate  
 Anilofos  
 Azinphos methyl  
 Bromophos  
 Butamifos  
 Cadusafos  
 Chlorfenvinphos  
 Chlorpyrifos  
 Chlorpyrifos methyl  
 Cyanofenphos  
 Cyanophos  
 Diazinon  
 Dichlofenthion  
 Dichlorvos  
 Dimethoate  
 Dimethylvinphos  
 Dioxabenzofos  
 Disulfoton  
 Edifenphos  
 EPN  
 Ethion  
 Ethoprophos  
 Etrinfos  
 Fenamiphos  
 Fenchlorphos  
 Fenitrothion  
 Fensulfotthion  
 Fenthion  
 Formothion  
 Fosthiazate  
 Iprobenfos  
 Isazophos  
 Isofenphos  
 Isoxathion  
 Malathion  
 Methacrifos  
 Methamidophos  
 Methidathion  
 Mevinphos  
 Monocrotophos  
 Naled  
 Omethoate  
 Parathion  
 Parathion methyl  
 Phenthoate  
 Phorate  
 Phosalone  
 Phosmet  
 Phosphamidon  
 Piperophos  
 Pirimiphos ethyl  
 Pirimiphos methyl  
 Profenofos  
 Propaphos  
 Prothiofos  
 Pyraclofos  
 Pyrazophos  
 Pyridaphenthion  
 Quinalphos  
 Sulprofos  
 Terbufos  
 Tetrachlorvinphos  
 Thiometon  
 Tolclofos methyl  
 Triazophos  
 Tribuphos

## イオントラップ型GC/MSによるEIで測定

149農薬

Acetochlor	Ethofumesate	Oxadixyl
Acrinathrin	Etofenozid	Oxyfluorfen
Alachlor	Etiozazole	Pacrobutrazol
Allidochlor	Fenanimol	Penconazole
Ametryn	Fenobucarb	Pencycuron
Atrazine	Fenothiocarb	Pendimethalin
Azoxystrobin	Fenoxanil	Phenothrin
Benalaxyl	Fenoxycarb	Picolinafen
Bendiocarb	Fenpropathrin	Pirimicarb
Benfluralin	Fenpropinorif	Pretilachlor
Benfuresate	Fipronil	Probenazole
Benoxacor	Flamprop methyl	Promecarb
Bifenthrin	Fluacrypyrim	Prometryn
Bifentanol	Fludioxonil	Propachlor
Bromacil	Flufenoxuron	Propanil
Bromobutide	Fluquinconazole	Propargite
Bupirimate	Flusilazole	Propham
Buprofezin	Flutolanil	Propiconazole
Butachlor	Flutriafol	Propoxur
Butafenacil	Fthalide	Propyzamide
Carbaryl	Furametpyr	Pyributicarb
Carbofuran	Furathiocarb	Pyrifenoxy
Carfentrazone ethyl	Furiazole	Pyrimethanil
Chlorfenapyr	Hexaconazole	Pyrimidifen
Chlorpropham	Hexazinone	Pyriminobac methyl
Chlorthal-dimethyl	Hexythiazox	Pyriproxyfen
Clomazone	Indoxacarb-MP	Quinoxifen
Clomeprop	Iprodione	Quintozene
Cloquintocet-1-methylhexyl ester	Iprovalicarb	Simazine
Cyanazine	Isoprocarb	Simeconazole
Cyflufenamid	Isoprothiolane	Simetryn
Cyhalofop-butyl	Kresoxim methyl	Tebuconazole
Cyproconazole	Lactofen	Tebufenpyrad
Cyprodinil	Lenacil	Tecnazene
Diclobutrazol	Mefenacet	Terbacil
Diclofop methyl	Mepronil	Terbutryn
Dicloran	Metalaxyl	Tetraconazole
Diethofencarb	Methiocarb	Thenylchlor
Difenoconazole	Methoxychlor	Thiazopyr
Diflufenican	Metolachlor	Thifluzamide
Dimethametryn	Metolcarb	Thiobencarb
Dimethenamid	Metominostrobin	Triadimefon
Diofenolan	Metribuzin	Tri-allat
Diphenamid	Molinate	Trifloxystrobin
Diphenylamine	Myclobutanil	Triflumizole
Dithiopyr	Napropamide	Trifluralin
Endosulfan	Nitrothal isopropyl	Uniconazole P
Esprocarb	Norflurazon	Vinclozolin
Ethalfuralin	Oxadiazon	XMC
Ethiofencarb		Xylylcarb

243農薬の平均回収率 88%  
 平均標準偏差 10%  
 n=5~55、添加濃度0.05~0.2μg/g

## 選択的 GPC および CC 精製を用いた農作物中スピノサドの分析

愛知県衛生研究所

○上野英二、大島晴美、松本 浩

### 【はじめに】

我々は、これまで 10 年以上にわたって数多くの農薬を対象に残留モニタリングを実施し、農薬の検出頻度や農作物への使用量の推移などを考慮した上で残留実態に即した農薬を選抜し、効率的なアセトニトリル抽出、ゲル浸透クロマトグラフィー (gel permeation chromatography, GPC) およびカラムクロマトグラフィー (column chromatography, CC) 精製、デュアルカラム-デュアル選択検出器付き GC、GC/MS および LC/MS 測定などを組み合わせた実用的な多成分分析法を開発してきている。

昨年度、我々は LC/MS を用いた多成分分析において市販のキャベツなどからスピノサドを検出した。スピノサドは、土壌放線菌サッカロポリス・ポラスピノサが産生する天然の殺虫活性成分を有し、作用機作がクロロニコチニル系を始めとした他の殺虫剤とは異なっている。また、毒性も低く、環境に対して負荷の少ない農薬として使用されている。分析対象成分は、高い殺虫活性を有するスピノシン A および D (Fig. 1) であるが、合成農薬に比べて大きな分子であり、分子の大きさの順に溶出される GPC では油脂やクロロフィルなどの色素と同様に早く溶出するため、通常の農薬画分 (フルバリネート (m.w. 502) の溶出開始～チアベンダゾール (m.w. 201) の溶出終了) では、その 40% 程度しか分取できない。そこで、環境省より示されている作物残留試験法に準じて、アセトニトリル-水で抽出し、酢酸エチル転溶、シクロヘキシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CH-CC)、次いでシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Silica gel-CC) により精製後、フォトダイオードアレイ検出器 (DAD) 付き HPLC により定量を試みたところ、農作物によってはクロマトグラム上に妨害ピークが出現したり、色素の多い葉菜類では定量値が予想された値を大きく下回るなどの問題が見られた。また、操作も煩雑なことから、限られた労力と機器の中においてスピノサドの残留モニタリングは容易ではないと考えられた。

そこで今回、本県においてスピノサドの使用についての経過措置を延長されているオオパ (青ジソの葉) を含めて代表的な適用作物を対象に、多成分分析で得られた試料粗抽出液を用いて、自動式 GPC によりスピノシン A および D を選択的に分取精製すると同時に CC 精製後、HPLC-DAD/MS で測定する分析法について検討したところ、有用性が確認されたので報告する。

### 【方法】

試験溶液の調製: Fig. 2 に準じて調製した。GPC 装置は島津 GPC クリーンアップシステムに Shodex の分離カラム CLNpak EV-2000 (20 mm.i.d. × 300 mm) およびガードカラム CLNpak EV-G (20 mm.i.d. × 100 mm) を装着し、移動相としてアセトニトリル-シクロヘキサン (3:7)、流速 5 mL/min を用いた。グラファイトカーボン-CH カラムは、Fig. 3 に示したように用事作製し、フラクションコレクターに装



着して用いた。

**HPLC-DAD/MS測定:** 島津製のLC-VP高圧グラジエントシステム、オートサンブラSIL-HTA、フォトダイオードアレイ紫外可視検出器SPD-M10AVP、高速液体クロマトグラフ質量分析計LCMS-2010A、カラム:資生堂CAPCELL PAK C18 MG II (100mm×2mmid, 3µm)および同ガードカラム(10mm×2mm id, 3µm)、移動相:10mM酢酸アンモニウム-アセトニトリル(25:75)2液混合、流量:0.25mL/min、カラム温度:40°C、注入量:10µL、DAD測定波長:245nm、MSインターフェイス:ESI(Positive, 4.5kV)、MSスキャン範囲および速度:100-850m/z(1000amu/sec)

### 【結果および考察】

**HPLC-DAD/MS条件:** DAD付きLC/MSを用い、移動相は多成分分析と同様に10mM酢酸アンモニウムとアセトニトリルの2液混合とした。分離カラムは酢酸アンモニウムを用いた中性条件下で低極性を示すスピノシンAおよびDの保持に優れるものを用いた。溶出条件は、類似したスピノシンAおよびDを十分に分離でき、ベースライン変動の少ないアイソクラティック条件を採用した。なお、DADは定量に、高い定性能力を有するが定量性にやや難のあるMSは確認に用いた。Fig. 4に標準溶液のクロマトグラムおよびマススペクトルを示した。

**抽出法:** Fig. 5に示した円筒形分液ロートを用いた吸引ろ過装置を考案した。試料からのホモジナイズ抽出液をろ過、塩析および水層分離後、アセトニトリル層の一定量を分取することができることから、吸引ろ過などを用いる従来法に比べて多数の試料における操作性が向上して抽出時間の大幅な短縮が可能となった。Table 1に水-アセトニトリル(1:4)100mLにスピノシンAおよびDを添加し、塩析およびアセトニトリル層の分取操作での回収率を示した。スピノシンAおよびD共に90%以上の良好な回収率が得られた。

**GPCおよびCC精製法:** 作物残留試験法を残留モニタリングに適用する場合の問題点として、(1)選択性に劣る波長250nmを用いた測定に対して精製が十分でない。(2)煩雑な精製操作の間にスピノシンAおよびDが徐々に光分解する。(3)ガラス器具類への吸着性がやや強く、水の含んだ溶媒使用時に損失する。(4)活性にばらつきのある市販シリカゲルミニカラムを使用する。特に、(5)油脂やクロロフィルおよびカロテノイド色素を多量に含有する農作物では、CH-CCによる精製操作においてスピノシンAおよびDがアセトニトリル、次いでアセトン洗浄時に溶出することが判明した。

我々は、油脂など高分子の食品成分を効果的に除去し、また、各種CCにおける過負荷を防ぎ、その性能を最大限に発揮させるために、GPCを基本とした試料精製法を検討してきている。特に、成分がほぼ分子の大きさの順に分離溶出されるGPCは、特定の農業成分のみを選択的に分取精製する個別分析において性能を最も発揮すると考えられた。また、GPC移動相にアセトン-シクロヘキサン(3:7)を用いることによって、GPCから溶出してきたスピノシンAおよびDがコンディショニングを行うことなくCH固相に強く吸着することを見出した。しかし、Table 1に示したようにスピノシンAおよびDのGPC溶出画分にはクロロフィルおよびカロテノイド色素の多くが混入し、これらを多量に含有するオオバなどでは、作物残留試験法の場合と同様にCH固相の吸着力が大きく

低下することが予想された。そこで、CH 固相上にグラファイトカーボンを積層して色素を保持させることとした。スピノシン A および D を添加したオオバの粗抽出液(試料 5g 相当)を GPC に注入し、その溶出画分(45~65mL)を CH 固相 1000mg 上にグラファイトカーボン 0~500mg を積層したカラムに直接負荷したのち、GPC 移動相 10mL で洗浄、アセトニトリル-トリエチルアミン(98:2) 5mL で溶出した。その結果、Table 2 に示したようにスピノシン A および D は、グラファイトカーボンを積層しないとクロロフィルおよびカロテノイド色素と共に洗浄液中に溶出してしまいが、グラファイトカーボンを 300mg 以上積層すると保持され、溶出液中にほぼ全量が回収された。そこで、色素を余裕をもって保持できるグラファイトカーボンの量として 500mg を充填することにした。Fig. 3 に示したように CH 固相とグラファイトカーボンを積層したガラスリザーバーに、自然流下で 1.5mL/min 程度となるように適当な長さとしたチューブを付けて GPC 装置のコレクター部に装着した。これにより遮光下で、カラム洗浄までの精製操作を自動化した。なお、カラム溶出以降は照明を暗くし、褐色のガラス器具を使用することにした。その結果、Table 1 に示したように選択的 GPC および CC 精製により油脂や色素を除去しながら、95%以上の良好な回収率が得られた。

作物残留試験法では、CH-CC に次いで Silica gel-CC により精製を行うこととしている。しかし、活性にばらつきのある市販ミニカラムを用いるために、スピノシン A および D の吸着、洗浄および溶出の条件設定が煩雑で相当の時間を要する。その上、効果も高くないことから Silica gel-CC による精製は省くことにした。

水の割合を多くするとガラスへの吸着と考えられるスピノシン A および D の損失が認められたため、アセトニトリル-水(6:4)により試験溶液を調製した。本精製法により得られた試料を溶解したところ、検討したすべての農作物で不溶物は全く認められなかった。また、デュラポア(PVDF)を始めとした多くのメンブレンフィルターでスピノシン A および D の吸着が認められたことから試料ろ過は省くことにした。

**添加回収実験:** 色素など妨害成分の多いオオバ、スピノサドが使用される代表的な農作物としてキャベツ、イチゴおよびイチジクのブランク試料に、試料中濃度として 0.05 および 0.25 $\mu\text{g}/\text{g}$  になるようにスピノシン A および D を添加後、30 分放置したものについて回収率を求め、その結果を Table 3 に示した。0.25 $\mu\text{g}/\text{g}$  添加ではスピノシン A および D 共に 90%以上、添加回収率の相対標準偏差は 5%未満、0.05 $\mu\text{g}/\text{g}$  添加でもそれぞれ 80%以上、10%未満と良好であった。本法および作物残留試験法に準じて調製したオオバの試験溶液より得られた DAD クロマトグラムを Fig. 6 に示した。また、スピノシン A および D を添加したオオバのブランク試験溶液のクロマトグラムから S/N が 3 を示す農薬量を求め、これを試料中の濃度に換算した検出限界値は、スピノシン A および D 共に DAD で 0.005 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、MS で 0.001 $\mu\text{g}/\text{g}$  であり、食品衛生法で要求される検出限界値を十分にクリアした(Table 4)。

**市販農作物への適用:** 本法を用いて、代表的な 25 種類の適用作物を対象に残留モニタリングを実施し、その結果を Table 4 に示した。51 検体中キャベツ 2 検体およびイチジク 1 検体からスピノサドが食品衛生法の基準値を大きく下回る濃度で検出された。代表例としてスピノサドが

0.02 $\mu\text{g/g}$ 検出されたキャベツのクロマトグラムおよびマススペクトルをFig. 7 に示したように、検討したすべての農作物でスピノシンAおよびDの溶出位置付近に妨害となるようなピークは認められなかった。以上のことから、本法がスピノサドの残留モニタリングに適用可能な簡便かつ定量性に優れた分析法であることが確認された。

# 農薬ポジティブリストの情報分析

○村田 弘、住本建夫、田中之雄 (大阪府立公衆衛生研究所)

## 1 はじめに

平成15年5月の食品衛生法の改正により、いよいよ平成18年5月をもって「ポジティブリスト制」がスタートする。この改正に伴い、対象となる(分析する)農薬数は246から515に倍増するが、検査側の人員等はこれに伴って急増することは困難と思われる。現状としてはこれらの分析法等も含め、いかに効率的な対策を講ずるかが急務となっている。このような背景から農薬ポジティブリスト情報の構築、共有及び有効活用を行うことは、不可欠であると考え、情報面からのアプローチを検討したので報告する。

## 2 方法

### 農薬PLのデータベースの構築

農薬数約600種〔農薬の残留基準設定数(最終案) +  $\alpha$ 〕について、最新かつ高い信頼性のある文献やWEB情報から農薬ポジティブリスト(以下、農薬PLとする)のデータ収集、農薬標準品からの情報の登録および複数の質量分析計(以下、MSとする)による測定データ等から約100項目を目途に収載中である。主な項目は農薬名、厚労省番号、CAS登録番号、分子式、分子量、物性値(溶解度、Log Pow等)、GC情報(保持時間)、MS情報(スペクトル等)、ADI、毒性データ、生産量、規制等をExcelに蓄積している。(現在データ充足率32%)

## 3 結果および考察

農薬PL情報の構築、活用等の概要を図1に示した。

### 3-1 標準品管理情報

標準品情報、成績証明書情報、納入履歴、使用履歴、有効期限および危険物情報のデータ管理やトレーサビリティを厚労省番号にも対応できるようにしてカルテ型データベースのFile Makerに登録(図2)、さらにExcelに蓄積している農薬PLのデータベースへエクスポートした。

### 3-2 MSデータ情報

EIおよびCI-NEGのGC/MS、GC/MS/MSおよびLC/MS/MSから得られたMSデータ及びスペクトルデータ集のMSデータ情報を農薬PLのデータベースに収録しており、その中からCI-NEGのGC/MS、GC/MS/MSのデータを用いて、市販の野菜ジュースにフェンバレートを0.01ppm添加した試料でSCAN(MC)法、SIM法、MS/MS法の3種類の測定を行った(図3)。その結果、SCANよりSIM、SIMよりMS/MSがフェンバレートを感度・正確度とも良好に定量できた。

### 3-3 ビジュアルデータマイニング

農薬PL情報のデータ間での意味のある情報を探索することを目的としたビジュアルデータマイニング(視覚化データ処理技術)を行った結果、Log Pow(生物への蓄積性の指標)とLC/MS/MSのRT(保持時間)との間に関連性が認められた(図4)。

### 3-4 農薬プライオリティーリスト

図5は、LC/MS/MSのクロマト上にLog Powの大きさを示したもので、生物への蓄積性の高い農薬がクロマトの後半部分に出現した。それらの農薬のGC/MS/MSとLC/MS/MSが同感度であればLC/MS/MSで測定することで農薬監視の重要度・優先性の評価を行う場合に有効であると考えられた。また物性情報、毒性情報、使用量情報等とのスコア化をすることで農薬プライオリティーリストを示すことが可能になると思われる。

### 3-5 GCMS情報データベースによるスクリーニング

GC情報及びMS情報から標準品が無くても農薬の存在可能性をスクリーニングすることが出来る多成分一斉検査法を検討した。(図6)

### 3-6 農作物中の残留農薬検査情報

各年度に実施された行政検査における農作物中の残留農薬検査結果をデータベースに取りまとめている。他機関からのそれらの情報も文献やWEBから併せて集計して検出率の高い農薬を把握するようにしている。

### 3-7 農薬PLに関するknowledge management(知識管理)

一斉分析法、GC-MSのベンダー、マトリックス等から得られた経験や教訓を蓄積・共有・利用やknow how、know whoを特定できる仕組みを作るための情報の構築を行っている。

## 4 まとめ

農薬PLの情報面での取り組みを「ポジティブリスト制」がスタートすることもあり始めた。データ充足率が少ないレベルでの情報分析ではあるが、より効率的、実用的な農薬PLの対策を講ずる手がかりになると期待できる。今後、更に定量性を含めデータを充実させていく必要があるが、個人一機関だけでは限界があり、共同研究や交流の場を通じて「農薬PLに関するあらゆる情報提供のアピール(呼びかけ)」を行うものである。今後、地方衛生研究所において農薬PL情報の構築、共有化はますます重要になり、このようなシステムを機能させていく必要があると考える。