

200939011A

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

# 食品中残留農薬等の汚染実態把握と 急性暴露評価に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 静岡県立大学食品栄養科学部 米谷 民雄

平成22(2010)年3月

# 目 次

## I. 総括研究報告

- 食品中残留農薬等の汚染実態把握と急性暴露評価に関する研究 ..... 1  
米谷 民雄

## II. 分担研究報告

1. 食品中残留農薬のスクリーニング分析法の開発 ..... 11  
根本 了
2. 畜水産食品中残留農薬及び動物用医薬品の包括的分析法の開発 ..... 39  
坂井 隆敏
3. 農産物中残留農薬のGC・LC併用による残留実態解析 ..... 53  
米谷 民雄
4. 残留農薬等の急性暴露評価手法の検討 ..... 75  
—残留農薬等暴露推定のための食品摂取量データベースの検討—  
～特に短期暴露推定量について～  
吉池 信男  
山田 友紀子

- III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ..... 99

## I. 総括研究報告

食品中残留農薬等の汚染実態把握と急性暴露評価に関する研究

研究代表者 米谷 民雄

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)  
平成21年度総括研究報告書

食品中残留農薬等の汚染実態把握と急性暴露評価に関する研究

研究代表者 米谷民雄 静岡県立大学・食品栄養科学部 客員教授

研究要旨

①食品中の残留農薬の迅速で効率的なスクリーニング分析法開発の一環として、測定における効率化・迅速化を図るために、残留農薬分析に適した GC-MS/MS および LC-TOFMS の測定条件について検討した。GC-MS/MS 測定では、平成 20 年度に開発した MS/MS 条件（プリカーサーイオン、プロダクトイオンおよびコリジョンエネルギー条件）の選択法を様々な種類の 28 農薬に適用し、最適な MS/MS 条件を求めた。得られた MS/MS 条件は、検討したほとんどの農薬で従来の標準品のシグナル強度を指標とした方法で得られた条件とは異なっていた。開発した MS/MS 条件の選択法を用いることにより、GC-MS/MS 測定の選択性および感度の向上が期待できる。LC-TOFMS 測定では、農薬分析に適した測定条件を求めるために、農薬の分子量範囲の 5 農薬（分子量約 140～870）を用いて、コーン電圧等の測定パラメーターの感度に対する影響について検討した。

②検査機関におけるより効率的な検査体制の確立を目的として、畜水産食品に基準が設定されている農薬および動物用医薬品（農薬等）の包括的一斉分析法の開発を試みた。平成 21 年度は、昨年度までに検討した抽出法に精製操作を追加して一斉分析法を構築し、農薬等 172 化合物について牛の筋肉および肝臓試料からの回収率を求めた。

③農産物やその加工食品中にどれくらいの数と種類の残留農薬が含まれているか、その実態を把握するために、GC/MS および LC/MS を併用して残留農薬の一斉分析を実施した。今年度は緑茶や玉露などのツバキ科チャ製品および他の植物からの茶の製品を対象とし、各種茶につき、異なる 3 地域・業者の製品を混合した試料を調製し、茶葉および熱湯抽出液（飲茶）について分析を行った。通知試験法に準拠した方法により、378 品目を対象として分析した。茶葉と熱湯抽出液の両方で検出された農薬については、熱湯中への移行比率に大きな差が見られた。今回の調査により、加工食品中から検出された農薬につき原材料に戻って適否を判定するための加工係数の必要性や、茶製品に統一的に適用する一斉試験法の必要性、ツバキ科チャ以外の茶の食品分類の重要性が再認識された。

④残留農薬の暴露評価を行うにあたり、短期暴露評価の手法を確立することが課題となっており、コーデックスにおいても検討されている。そこで、短期暴露評価手法の確立を目指した検討を行った。具体的には、一点推定法による残留農薬の急性暴露評価を行うために、前年度に整理した食品分類を再構築するとともに、ポーションサイズに関わるデータとを統合し、特に「ケース 2」における暴露量の計算作業を系統的かつ円滑に行うための基礎資料を整備した。すなわち、1 年 4 季節（平日 2 日と休日 1 日を含む連続しない 3 日間）の詳細な摂取量データを基として、短期暴露評価により適した「食品分類」－「調査データに基づく摂取量分布」－「ユニット重量」を統合したデータベースを整備し、「ケース 1」～「ケース 3」への適用可能性を検討・整理した。

## 分担研究者

根本 了 (国立医薬品食品衛生研究所)

坂井隆敏 (国立医薬品食品衛生研究所)

吉池信男 (青森県立保健大学)

## 研究協力者

山田友紀子 (農林水産省大臣官房審議官)

## A. 研究目的

①食品中残留農薬のより迅速で効率的なスクリーニング分析法を開発するためには、抽出・精製過程に加え、測定効率化、迅速化が必要である。しかし、食品中の残留農薬分析のように夾雑成分が多い試料の分析では、食品マトリックス中から多数の農薬を効率的に検出する必要があり、そのためにはより選択性の高い検出法が必要である。そこで、GC-MS/MS法 (ガスクロマトグラフィー・タンデム型質量分析法) およびLC-TOFMS法 (液体クロマトグラフィー・飛行時間型質量分析法) の残留農薬分析に適した測定条件について検討した。

②畜水産食品には動物用医薬品と農薬の基準値が設定されているものがあるため、農薬と動物用医薬品の両方を測定しなければならない。しかしながら現状では、農薬試験法と動物用医薬品試験法を用いて2度の検査を行う必要がある。農薬および動物用医薬品を一度に分析できる方法が開発できれば、検査を1度に短縮できる為、より効率的な食品の検査が可能になると考えられる。本研究では、検査機関におけるより効率的な検査体制の確立を目的として、畜水産食品中の農薬等を対象として、これらの包括的一斉分析法の開発を試みた。

③農薬等のポジティブリスト制度の導入により、基準値が設定された農薬等の数が大幅に増加し、スタート時には799に達した。これら農薬等においては、当然ながら分析対象化合物の極性により、GC測定が適している品目とLC測定が適している品目がある。そのため、農薬の残留実態を調査するためには、両法を併用して分析する必要がある。そこで、今後の検査方針を考える際の資料とするため、どれくらいの種類の農薬が農産物やその加工食

品中に残留しているかのデータを収集する目的で、GC/MSおよびLC/MSによる一斉試験法を用いて、残留農薬を調査した。同一農産物や加工食品でも、栽培時に使用される農薬が異なることを考え、異なる3地域または3業者からの製品の混合試料を調製して分析を行った。今年度は、緑茶や玉露などのツバキ科チャ製品および他の植物からの茶製品を対象とした。

④残留農薬の暴露評価を行うにあたり、短期暴露評価の手法を確立することが課題となっており、コーデックスにおいても検討されている。そこで、短期暴露評価手法の確立を目指した検討を実施した。この評価手法が確立できれば、残留基準の評価に反映させることにより、食品の安全確保をより確かなものに行うことができる。

## B. 研究方法

### ①<GC-MS/MS 測定条件の検討>

平成20年度に開発したMS/MS条件の選択法を28農薬に適用し、最適なMS/MS条件を求めた。即ち、マススペクトルの情報等から候補プリカーサーイオンを選択した後、各候補プリカーサーイオンについて、ブランク試験溶液のノイズから求めたS/N比を指標として最適な候補プロダクトイオンおよびコリジョンエネルギーを選択した。得られたMS/MS条件を用いて同時測定を行い、同様にS/N比を指標として最適なMS/MS条件を選択した。

### <LC-TOFMS 測定条件の検討>

農薬分析に適したLC-TOFMS測定条件を求めるために、エテホン (M.W. 144.5)、クミロン (M.W. 302.8)、フルメトリン (M.W. 510.4)、スピノシン D (M.W. 746.0) およびアベルメクチン 8,9 Z-異性体 B1a (M.W. 873.1) を用いて、コーン電圧、アパーチャー1電圧およびキャピラリー電圧の感度に対する影響について検討した。

②検討対象化合物としては、畜水産食品に基準値が設定されている農薬等から、農薬94化合物、動物用医薬品 (動物薬) 58化合物、および農薬且つ動物薬として使用される薬品 (農薬/動物薬) 20化合物を用いた。まず、

上記 172 化合物について、水およびアセトン/*n*-ヘキサン混液を用いて抽出を行った際の、水層への分配率について調査した。

次に、水およびアセトン/*n*-ヘキサン抽出において得られる水層の精製を目的として、ポリマー系のミニカラム (Oasis HLB、充填量 500 mg、Waters 製) からの検討対象化合物の溶出挙動を調査した。さらに、各比率の溶出液で得られた溶出率、先に得られた水層分配率を用いて各検討対象化合物の予想回収率を算出した。

続いて、牛の筋肉および肝臓試料を対象として、構築した分析法を用いて添加回収試験を行った。

また、標準溶液、筋肉および肝臓試料のブランク試験溶液について、ネガティブ及びポジティブイオンモードにおけるスキャン測定を行った (コーン電圧 30 V、測定範囲  $m/z$  100~1000)。

③緑茶 (煎茶)、かぶせ茶、玉露、はと麦茶、甜茶、そば茶、黒豆茶、グアバ茶、杜仲茶の 9 種の茶につき、異なる地域・業者の 3 製品を購入した。各茶の 3 製品を混合した試料を作成し、通知一斉試験法に準じた GC/MS 法および LC/MS 法により、茶葉および熱湯抽出液につき、残留農薬の一斉分析を行った。今回の茶試料については、対象農薬は 378 成分であった。

茶の熱湯抽出方法は、以下の通りである。検体 9.00 g を 100°C の水 540 mL に浸し、室温で 5 分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液 300 mL (5 g 相当) (※) を 500 mL の三角フラスコに移した。再抽出には一斉試験法における方法を用い、アセトニトリルで再抽出し、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て、分析に供した。(※) 通知試験法では 360 mL であるが、濃度を算出する都合上、5 g 相当になるように 300 mL とした。

④短期暴露評価を今後実施していくために必要な農作物をリストアップした。具体的な方法については、昨年度の報告書に記載した。昨年度に検討・構築した食品グループについて、特に短期暴露量評価という観点からさらに検討を必要とする食品グループ、茶などむ

しろ長期暴露について問題となる食品であるが、暴露量の推計の計算プロセスにいくつかの前提条件をおく必要があるものを中心に個々の食品番号の当てはめ、各種換算係数 (材料比、重量比、重量変化率) の再検討を行った。また、昨年度に検討・記載した各農作物のユニット重量のデータを拡充した。今後、ケースバイケースで、「ユニット」のとらえ方を検討し、暴露評価のシナリオを選択していくことが予想される。そのようなことから、ユニットに関して利用可能な情報について、現時点での整理を行い、今後必要に応じてデータを拡充することとした。摂取量データとこのユニットに関する情報を統合し、暴露評価のシナリオへの適用可能性について検討・整理した。

## C. 研究結果

### ①<GC-MS/MS 測定条件の検討>

平成 20 年度にオキシクロルデンをモデル化合物に用いて開発した MS/MS 条件の選択法を構造の異なる 28 農薬に適用し、従来の標準品のシグナル強度を指標とした方法の結果と比較した。開発した MS/MS 条件選択法では、ノイズの指標に複数の食品のブランク試験溶液を用いているため、果実、野菜、穀類および肉類などの食品成分由来の主な夾雑ピークおよびノイズの影響が考慮された結果が得られることから、食品中の残留農薬分析において、妨害を受けにくくかつ高感度な条件を得ることができた。また、開発した MS/MS 条件選択法で得られた結果と標準品のシグナル強度を指標とした方法で得られた結果を比較したところ、両者の結果は大きく異なっていた。

### <LC-TOFMS 測定条件の検討>

LC-TOFMS 測定では、測定する分子量範囲により最適な測定条件が異なることから、農薬分析に適した測定条件を求める必要がある。そこで、農薬の分子量範囲の 5 農薬 (分子量約 140~870) を用いて、測定条件 (コーン電圧、アパーチャー1 電圧およびキャピラリー電圧) の感度に対する影響について検討した。コーン電圧およびキャピラリー電圧については、主に農薬の分子量に依存している傾向が

見られた。アパーチャー1 電圧については、分子量に加え構造による影響が大きいことから、分子量が同じであっても、農薬ごとにアパーチャー1 電圧の最適値が異なると考えられた。

②本年度は、得られた有機層および水層それぞれに対して、まずは基本となる精製操作の追加を検討した。

まず、抽出の際における検討対象化合物の各層への分配率 (%) について調査した。食品マトリックスが存在しない条件で抽出操作を行い、水層中の検討対象化合物量を測定することにより、水層への分配率を求めた。その結果、保持時間が 25 分よりも遅い化合物については、一部の化合物を除いて水層への分配は認められず、ほとんどが有機層に分配していることが確認された。また、保持時間が 25 分よりも早い化合物については、保持時間が早い化合物ほど水層への分配率が高く、保持時間が遅くなるに従って水層への分配率が低下する傾向が確認された。

次に、抽出において得られる有機層および水層に対する精製法について検討した。有機層の精製については、平成 19 年度の検討において種々の分子量の化合物に対して適用可能であると推察され、簡便に脂肪類の除去が可能であると考えられたアセトニトリル/*n*-ヘキサン分配を採用した。また、水層の精製については、多くの化合物に適用可能であると考えられた逆相系のポリマー樹脂ミニカラム (Oasis HLB) を採用することとした。

続いて、構築した分析法を用いて、牛の筋肉および肝臓試料を対象として、検討対象化合物の添加回収試験を行った。牛の筋肉試料においては、保持時間が 20~30 分の化合物については比較的良好な回収率 (70~120%) が得られた化合物が多かったが、保持時間が 20 分よりも早い化合物及び保持時間が 30 分よりも遅い化合物については概ね低い回収率 (50%程度) であった。また、牛の肝臓試料においては、化合物の保持時間に関わらず、概ね 25~50%と低い回収率であった。

また、混合標準溶液、筋肉および肝臓ブランク試験溶液について、ネガティブおよびポ

ジティブイオンモード (共に、測定範囲  $m/z$  100~1000、コーン電圧 30 V) におけるプリカーサーイオンスキャン測定を行った。その結果、筋肉ブランク試験溶液で得られたクロマトグラムにおいては、ネガティブおよびポジティブイオンモード共に、保持時間 10~20 分の位置にシグナル強度は弱いが多数の夾雑物が、また、保持時間 30~40 分の位置に極めて強度の高い多数の夾雑物が溶出していることが確認された。肝臓ブランク試料で得られたクロマトグラムにおいては、ネガティブおよびポジティブイオンモード共に、広い保持時間範囲においてシグナル強度の高い夾雑物が溶出していることが確認された。

③各種茶につき 3 地域または 3 業者の製品を入手し、それらを混合した試料について、GC-MS および LC-MS/MS により残留農薬の一斉分析を実施した。ツバキ科チャ試料では基準値を超えて検出された農薬はなかった。その他の茶においては、定量限界の 0.01 ppm を超えて、甜茶で 3 種、そば茶、黒豆茶、グアバ茶で各 1 種の農薬が検出された。

④短期暴露評価のための農作物摂取量データベースにより、今回再構築した 228 食品グループから、食事調査において該当する食品番号が存在しない、または短期暴露評価に適した食品グループ化が困難であった 30 食品を除いた 198 食品について、年齢階級別の摂取量分布 (1 日当たり、体重 kg 当たり) の詳細データを示した。さらに、228 の食品グループに含まれる食品名の詳細と、摂取量データの要約、ユニット重量情報および廃棄率、暴露評価シナリオの適用可能性などの情報を統合してデータベース化した。

## D. 考察

### ①<GC-MS/MS 測定条件の検討>

装置メーカー等から提供される MS/MS 条件が、標準品のシグナル強度のみを指標にして求められている場合には、必ずしも食品中の残留農薬分析に最適な MS/MS 条件ではない場合があることが示唆された。

### <LC-TOFMS 測定条件の検討>

LC-TOFMS 測定は、個々の化合物ごとにコー

ン電圧、アパーチャー1 電圧およびキャピラリー電圧を設定することは困難であるため、農薬測定に適した代表的な測定条件を求める必要がある。食品中の残留規制の対象農薬は600を超えるため、今回の検討のみでは全ての農薬に最適な測定条件を求めることは困難であった。特に、アパーチャー1 電圧については、農薬の構造によって最適な条件が異なることから、できる限り多くの農薬に適用可能な条件を求めるため、検討農薬数を増やしてより詳細な検討を行う必要があると思われる。

②抽出の際における検討対象化合物の水層分配率(%)について調査した結果、多くの化合物については、保持時間が25分よりも遅い化合物については水層に分配されず、保持時間が25分よりも早い化合物については、保持時間の増加に伴い水層分配率が低下する傾向が認められた。化合物の官能基や構造等の影響が無い場合には、各化合物のlog Pow値と保持時間には相関があり、また、水層分配率はlog Pow値に依存することから、得られた結果は概ね妥当なものであると考えられた。

次に、抽出において得られた各層に対する精製操作の追加であるが、有機層の精製については、平成19年度の検討において種々の分子量の化合物に対して適用可能であると推察され、簡便且つ迅速に脂肪類を除去可能であると考えられたアセトニトリル/*n*-ヘキサン分配を採用した。水層の精製については、ポリマー系合成樹脂を充填したミニカラム(Oasis HLB)を用いて検討を行うこととし、最適な溶出条件の検討を行った。

最後に、精製操作を追加して構築した分析法を用いて、牛の筋肉および肝臓試料を対象として添加回収試験を行った。

本研究で検討を行った精製操作では除去できなかった試料由来夾雑物が検討対象化合物と共に分析カラムから溶出し、質量分析におけるイオン化の際に検討対象化合物のイオン化を阻害することにより、絶対検量線法による回収率が実際の回収率よりも低く算出されている可能性があることが推察された。

③3製品混合試料について分析すると、個別

製品と比べ濃度が1/3になり、検出できなくなる農薬がある一方で、異なる3地域・業者の製品で違った農薬が残留している場合には、同時に検出できる可能性がある。一長一短ではあるが、どれくらいの種類の農薬が残留しているかを調査する今回の目的では、混合試料を作成する方法を選択した。

今回の分析結果で、食品分類からの基準値を単純に適用すると、基準値を超える可能性が考えられるものがあったが、3種類の製品を混合して分析したため、どの製品かは不明であった。また、各種の茶製品においては、もとの農産物を焙煎加工しているため、原材料から製品に加工された時の残留農薬濃度の変化(加工係数(希釈係数や濃縮係数))が必要になる。そのため、今後個々の製品の分析を行い適否を判定する際には、この加工係数が重要な因子になると考えられる。また、最近健康茶として、各種の茶を混合した製品も多く摂取されている。その場合には、各茶の混合割合のデータも必要になる。

同じ試料について茶葉と熱湯抽出液で同一の農薬が検出されたものでは、シメコナゾール、テブコナゾール、メトキシフェノジドなどの水溶解性が高い農薬では移行比率が高かったが、一般的には移行比率は低いことが再確認された。一斉試験法では茶葉中の農薬で分析できないものが多いため、個別分析法を適用した調査も必要と考えられた。

今回、通知一斉試験法に準じた方法で茶試料の分析を試みたが、一般食品とくらべ、分析対象が429成分から378成分に減少した。ツバキ科チャの製品においては、抹茶以外の茶を分析する場合は、一斉試験法を用いずに指定された個別試験法を用い、熱湯抽出液について分析することになっている。このように、ツバキ科チャに対しては、茶葉基準と飲茶基準の基準値が混在しており、当然ながら分析法も異なっている。今後、再検討する必要があると思われる。近年は抹茶以外にもお茶を食べることが多くなっている。食べるお茶の摂食量の情報収集も必要かもしれない。

一方、その他の茶の原材料の多くが食品分類として「その他の野菜」などになるため、今



後の残留農薬調査のためにも、食品分類について再整理しておく必要があるかもしれない。

④長期暴露評価と異なる点としては、農作物の個々の大きさ（1個の重量が25g以上かどうか）により、暴露量推計のシナリオが異なることである。このことは、単に算出式の場合分けのみに留まらず、各農作物グループに対して、どの範囲の加工食品を含ませるかということにもかかわってくる。短期暴露評価でより重要となるのはケース2の場合であり、その際に必要となる情報を中心として、今回整理を行った。短期暴露という“特殊な”目的のために、「暴露」→「加工」→「流通」（販売形態）→「摂取」というプロセスにおける多様性を想定しながら、試算のための条件や食品のグループ化、「ユニット」のとらえ方をさらに検討することが必要である。

## E. 結論

### ①<GC-MS/MS 測定条件の検討>

開発したMS/MS条件選択法を様々な種類の28農薬に適用し、最適なMS/MS条件を求めたところ、検討したほとんどの農薬で標準品のシグナル強度を指標とした従来の方法とは異なる結果が得られた。開発したMS/MS条件選択法では、食品由来の夾雑成分による影響を考慮するために、食品のブランク試験溶液のノイズから求めたS/N比を指標としているため、シグナル強度を用いた方法よりも、より高い選択性および感度が期待できることから、食品中の残留農薬分析に適したMS/MS条件を求めるのに有効な方法と考えられる。

### <LC-TOFMS 測定条件の検討>

農薬分析に適したLC-TOFMS測定条件を求めるために、農薬の分子量範囲の5農薬（分子量約140~870）を用いて、測定パラメーター（コーン電圧、アパーチャー1電圧およびキャピラリー電圧）の感度に対する影響について検討した結果、最適な測定条件は農薬の分子量や構造に大きく依存していることがわかった。LC-TOFMS測定では、個々の化合物ごとに測定パラメーターを設定することは困難であるため、農薬測定に適した代表的な測定条件を求める必要がある。しかし、食品中の

残留規制対象となる農薬は600を超えるため、できる限り多くの農薬に適用可能な測定条件を求めるには、対象農薬数を増やしてより詳細な検討を行う必要があると思われる。

②畜水産食品に残留する農薬および動物用医薬品の包括的一斉分析法の開発を目的として、水およびアセトン/*n*-ヘキサン混液を用いて検討対象化合物を抽出した後、得られた抽出液に対する基本となる精製操作の追加を試みた。抽出操作において得られる有機層については、脂肪類の除去を目的としてアセトニトリル/*n*-ヘキサン分配を追加し、水層については、低~中極性夾雑物の除去を目的としてOasis HLB ミニカラムを用いた精製を追加した。構築した分析法を用いて添加回収試験を行った結果、筋肉試料においては、試料由来夾雑物の溶出が少ない保持時間20~30分の化合物については比較的良好な回収率（70~120%）が得られたが、それ以外の保持時間の化合物は概ね50%程度の低回収率となった。また、肝臓試料においては、保持時間に関わらずほとんどの化合物が25~60%と低回収率であった。

以上の結果から、本年度に検討した精製操作では試料由来夾雑物の除去が不十分であるため、多くの検討対象化合物のイオン化を阻害し、絶対検量線法による検討対象化合物の回収率を低下させていることが推察された。したがって、本研究で検討した基本の精製操作に加え、試料由来夾雑物、特に、肝臓試料由来の夾雑物等を効果的且つ効率的に除去し得る精製操作の追加が必須であることが示された。

③各種茶の3製品を混合した試料を作成し、茶葉と熱湯抽出液につき、GC/MSおよびLC/MSによる一斉試験法を用いて、残留農薬を一斉分析した。茶葉と熱湯抽出物の両方で検出された農薬では、シメコナゾールのように飲茶に移行しやすい農薬から、移行しにくい農薬まで検出された。

加工食品から農薬が検出されたため、原材料に戻って適否を判定するために、原材料に残留している農薬濃度が加工工程によりどのように変化するかの加工係数（希釈率、濃縮

率)が必要なことも再認識された。現在、加工食品中の残留農薬分析法を国レベルで開発中であるが、分析法が設定されれば、検査結果から製品の適否を判定するために、加工係数や混合比のデータが今後益々必要になってくると思われる。

今回の分析では、通知試験法に準拠した方法を各種茶製品に適用したが、一般の食品の場合よりも分析可能な農薬数が減少した。茶に適用できる一般試験法の開発・充実が望まれる。

抹茶以外の茶を分析する場合には、農薬により茶葉として分析する場合と、熱湯抽出して分析する場合がある。基準値を含め、整理・統一することが望ましいと考えられた。

④一点推定法による残留農薬の急性暴露評価を行うために、前年度に整理した食品分類を再構築するとともに、ポーションサイズに関わるデータとを統合し、特に「ケース2」における暴露量の計算作業を系統的かつ円滑に行うための基礎資料を整備した。すなわち、1年4季節の詳細な摂取量データを基として、短期暴露評価により適した「食品分類」-「調査データに基づく摂取量分布」-「ユニット重量」を統合したデータベースを整備し、「ケース1」~「ケース3」への適用可能性を検討・整理した。今回整備した摂取量およびポーションサイズの統合データベースにより、ラージポーションサイズなどによる暴露量推計の類型化と、特に「ケース2」における暴露量の計算作業が容易となる。このデータベースおよびそれを用いた評価手法が確立し、残留基準の評価に反映させることにより、食品の安全確保がより確かなものとなることが期待される。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

## II. 分担研究報告

### 1. 食品中残留農薬のスクリーニング分析法の開発

分担研究者 根本 了

食品中残留農薬等の汚染実態把握と急性暴露評価に関する研究  
食品中残留農薬のスクリーニング分析法の開発

研究分担者 根本 了 国立医薬品食品衛生研究所 食品部第一室長

研究要旨

食品中の残留農薬の迅速で効率的なスクリーニング分析法開発の一環として、測定における効率化・迅速化を図るために、残留農薬分析に適した GC-MS/MS 及び LC-TOFMS の測定条件について検討した。GC-MS/MS 測定では、平成 20 年度に開発した MS/MS 条件(プリカーサーイオン、プロダクトイオン及びコリジョンエネルギー条件)の選択法を様々な種類の 28 農薬に適用し、最適な MS/MS 条件を求めた。得られた MS/MS 条件は、検討したほとんどの農薬で従来の標準品のシグナル強度を指標とした方法で得られた条件とは異なっていた。開発した MS/MS 条件の選択法を用いることにより、GC-MS/MS 測定の選択性及び感度の向上が期待できる。LC-TOFMS 測定では、農薬分析に適した測定条件を求めめるために、農薬の分子量範囲の 5 農薬(分子量約 140~870)を用いて、コーン電圧等の測定パラメーターの感度に対する影響について検討した。

A. 研究目的

食品中残留農薬のより迅速で効率的なスクリーニング分析法を開発するためには、抽出・精製過程に加え、測定の効率化、迅速化が必要である。しかし、食品中の残留農薬分析のように夾雑成分が多い試料の分析では、食品マトリクス中から多数の農薬を効率的に検出する必要があり、そのためにはより選択性の高い検出法が必要である。そこで、GC-MS/MS 法(ガスクロマトグラフィー・タンデム型質量分析法)及び GC 測定が困難な農薬を対象として LC-TOFMS 法(液体クロマトグラフィー・飛行時間型質量分析法)の残留農薬分析への適用について検討した。

GC-MS による残留農薬分析では、現在主にイオン選択検出(SIM)測定が用いられているが、近年、GC-MS/MS 装置の普及に伴い、GC-MS/MS 法の残留農薬分析への適用について関心が高まってきた。残留農薬分析においては、GC-MS の SIM 測定は有効な手法であるが、夾雑成分が多い食品では、妨害を受け測定が

困難な場合がある。一方、MS/MS 測定は、第一段階の質量分離で目的イオン(プリカーサーイオン)と夾雑成分を分離させ、更に第二段階で衝突解離によりプリカーサーイオンから解離イオン(プロダクトイオン)を生成させ、第三段階の質量分離で生成したプロダクトイオンを検出する手法であるため、シングルの MS 測定よりも夾雑成分の影響を受けにくい。そのため、GC-MS/MS 法は GC-MS 法よりも選択性が高く、食品中の残留農薬分析に有効な方法であると思われる。そこで、平成 20 年度にオキシクロルデンをモデル化合物として、食品成分の影響を受けにくい MS/MS 条件の選択法を開発した。本年度は開発した MS/MS 条件の選択法を様々な種類の 28 農薬に適用し、従来の標準品のシグナル強度を指標とした方法と比較した。

TOFMS は精密質量数の測定が可能であるため、これまで主に構造解析等に利用されてきたが、微量化合物の定量分析への応用はほとんどされていない。しかし、残留農薬分析に用いることができれば、精密質量測定を利用した質量分

離により、農薬と試料由来の夾雑成分を分離測定することが可能と思われる。そこで、分子量の異なる複数の農薬を用いて、農薬分析に適した LC-TOFMS 測定条件の検討を行った。

食品中の残留農薬分析に GC-MS/MS 法あるいは LC-TOFMS 法のような選択性の高い検出法を用いることができれば、食品成分による測定妨害を軽減できるため、定量・確認が容易となり、残留農薬分析の一層の迅速化・効率化が期待できる。

## B. 研究方法

### 1. 試料

市販のリンゴ、オレンジ、ばれいしょ、キャベツ、ハウレンソウ、玄米、牛(筋肉)及び牛(肝臓)を使用した。

### 2. 試薬及び試液

試薬：有機溶媒は残留農薬試験用試薬(和光純薬工業㈱または関東化学㈱製)を使用した。Mega Bond Elut C18(1g/6 mL)及び Bond Elut Jr. PSA(500 mg)は Varian 社製を使用した。ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub>(6 mL, 500 mg/500 mg)は Supelco 社製を使用した。Sep-Pak plus Silica(690 mg)は Waters 社製を使用した。セライトは和光純薬工業㈱製のセライト No.545 を使用した。

農薬標準品：残留農薬試験用(林純薬㈱、和光純薬工業㈱または関東化学㈱製)を使用した。

農薬標準原液：農薬標準品をヘキサンで溶解(溶解しにくい場合は必要に応じてアセトンを追加)して 1 mg/mL の濃度に調製し冷凍庫(-30℃)に保存した。検討には農薬標準原液をアセトンまたはヘキサンで適宜希釈して使用した。

### 3. 装置

GC-MS/MS：オートサンプラー Combi PAL(CTC Analytics 社製)を接続したガスクロマトグラフ CP-3800(Varian 社製)及び質量分析計 320-MS Quadrupole MS/MS(Varian 社製)を使

用した。

LC-TOFMS：液体クロマトグラフ UPLC(Waters 社製)及び飛行時間型質量分析計 LCT Premier(Waters 社製)を使用した。

ゲル浸透クロマトグラフ(GPC)：液体クロマトグラフ用ポンプ LC-6A(㈱島津製作所製)、オートインジェクター SIL-10A(㈱島津製作所製)、UV 検出器 SPD-6AV(㈱島津製作所製)、フラクションコレクター FRC-10A(㈱島津製作所製)、記録計 C-R4A(㈱島津製作所製)及びシステムコントローラー SCL-10A(㈱島津製作所製)を使用した。カラムオーブンは Model 555(ジューエルサイエンス製)を使用した。

### 4. GC-MS/MS 条件

GC 条件：カラム、VF-5ms(長さ 10 m、内径 0.53 mm、膜厚 0.25 µm、Varian 社製)にリストラクター(不活性化キャピラリーカラム：長さ 15 m、内径 0.25 mm、Agilent 製)を接続；カラムオーブン温度、50℃(1.0 min)→30℃/min→300(5.67min)、分析時間=15 min；注入口温度、250℃；キャリアーガス、ヘリウム；キャリアーガス流速、0.9 mL/min；注入量、2 µL

MS 条件：イオン源温度、240℃；マニホールド温度、40℃；トランスファーライン温度、280℃；イオン化エネルギー、70 eV(EI+モード、フィラメント電流、50 µA)；検出器電圧、オートチューニングでの最適値(MS/MS 測定ではオートチューニングでの最適値に 400 V を足した値)；質量ピーク幅、Q1 = 0.7 amu [AMD (automated method development)測定及び MS/MS 測定では 1.0 amu]及び Q3 = 0.7 amu；スキャン範囲、50～550 amu；コリジョンガス、Ar(ガス圧、2.0 mTorr)

AMD 測定条件：コリジョンエネルギーを切り換えながらプロダクトスキャン測定をすることにより、1 回の測定で複数のコリジョンエネルギーを同時に検討することが可能である。コリジョンエネルギーは、5 eV 間隔で 7 条件(-5、-10、-15、-20、-25、-30 及び -35 eV)について検討した。

注入方法：パルスドスプリットレス注入(パル

ス圧、30 psi;パルス時間、0.6 min;ベント開始時間、0.6 min(注入終了後定流量モード);注入口ライナー、不活性化処理済みのシングルテーパ付ライナー(少量の不活性化処理済みの石英ウールを充填)

## 5. LC-TOFMS 条件

LC 条件: 移動相、10 mM 酢酸アンモニウム緩衝液・アセトニトリル(1:1);流速、0.05 mL/min;注入法、フローインジェクション法;注入量、5  $\mu$ L

TOFMS 条件: イオン化モード、ESI(+)及びESI(-);データ、Centroid;検出器モード、Wモード(分解能約 10,000);ダイナミックレンジ、Normal;ソース温度、120°C;脱溶媒ガス温度、350°C;脱溶媒ガス流量、600 L/hr;コーンガス流量、50 L/hr;スキャン時間、0.3 秒;スキャン範囲、 $m/z$  50 ~ 1000;ロックマス内部標準、Leucin-Enkephalin(2000 pg/ $\mu$ L);内部標準流速、5  $\mu$ L/min;内部標準導入間隔、5 スキャン;コーン電圧、25、50、75、100 及び 125V;Aperture 1 電圧、5、10、15、20、30、40 及び 50;キャピラリー電圧、1500、2000、2500、3000 及び 3500 V

## 6. GPC 条件

GPC 条件: カラム、CLNpak EV-2000(内径 20 mm、長さ 300 mm、昭和電工製)にガードカラムとして CLNpak EV-G(内径 20 mm、長さ 100 mm、昭和電工製)を接続;移動相、アセトン・シクロヘキサン(1:4);流速、5 mL/min;カラム温度、40°C;注入量、4 mL

分取範囲: アクリナトリン及びトリシクラゾールの混合溶液(5 mg/L)を移動相で調製し、その 4 mL を GPC に注入して 254 nm でモニターし、あらかじめ分取範囲を確認した。牛(筋肉)では、アクリナトリンの保持時間からトリシクラゾールの溶出終了までを分取した。牛(肝臓)では、画分 1(アクリナトリンの保持時間からアクリナトリンの溶出終了まで)及び画分 2(アクリナトリンの溶出終了からトリシクラゾールの溶出終了まで)を分取した。

## 7. ブランク試験溶液の調製

リンゴ、オレンジ、ばれいしょ、キャベツ、ホウレンソウ及び玄米は、通知の GC/MS による農薬等の一斉試験法(農産物)(食安発第 1129002 号平成 17 年 11 月 29 日)に従って、牛(筋肉)及び牛(肝臓)は、GC/MS による農薬等の一斉試験法(畜水産物)(食安発第 1129002 号平成 17 年 11 月 29 日)に従って試験溶液を調製した。

8 食品の試験溶液を等量ずつ混合物し、ブランク試験溶液とした。

## 8. MS/MS 条件選択法

MS/MS 条件の選択は次の手順で行った。

### ①候補プリカーサーイオンの選択

対象農薬のマススペクトルから、強度が強くなつてできるだけ高質量のフラグメントイオンの中から、食品中の夾雑成分の影響を受けにくいイオンをプリカーサーイオンの候補イオンとして複数選択した。

### ②候補プロダクトイオン及びコリジョンエネルギーの選択

各候補プリカーサーイオンについて、AMD 測定を行い、ブランク試験溶液のノイズから求めた S/N 比を指標として、複数の候補プロダクトイオンとコリジョンエネルギーの組合せを求めた。

### ③MS/MS 条件の選択

②で求めた複数の候補となるプリカーサーイオン、プロダクトイオン及びコリジョンエネルギーの組合せ(MS/MS 条件)を用いて、GC-MS/MS 測定を行い、ブランク試験溶液のノイズから求めた S/N 比を指標として、最適な MS/MS 条件を決定した。

## C. 研究結果及び考察

### 1. GC-MS/MS 測定条件の検討

平成 20 年度にオキシクロルデンをモデル化合物に用いて開発した、食品成分の影響を受けにくい MS/MS 条件の選択法を他の農薬に適用し、その有効性について検討した。検討には表 1 に示した構造の異なる 28 農薬を用い、開発した MS/MS 条件選択法の結果と、従来の標準品のシグナル強度を指標とした方法の結果とを比

較した。

## 1-1. 開発した MS/MS 条件選択法による検討

### ①候補プリカーサーイオンの選択

プリカーサーイオンの候補イオンとしては、有効なプロダクトイオンが得られるように、できるだけ強度が強かつ高質量のイオンを用いる方が良いと考えられる。そのため、検討対象農薬のマススペクトル(図 1)から、フラグメントイオンの強度の強い順にイオンを選択した。その際、強度に大きな差がなければできる限り分子イオンあるいはより高質量のイオンを選択した。特に、メブレンのように  $m/z$  100 未満にしか強度の強いイオンが観察されなかった場合には、強度によらず高質量側の特徴的なイオンを選択した。また、候補イオンの選択に当たっては、食品成分やカラム液層のブリード等による妨害を受けることが予めわかっている場合には候補から除外した。

各農薬の候補プリカーサーイオンを表 2 に示したが、今回は比較検討のために 1 農薬 10 イオン程度になるように選択した。特にメブレンは高質量側の特徴的なイオン加味して 14 イオンを選択した。

### ②候補プロダクトイオン及びコリジョンエネルギーの選択

用いた装置は、コリジョンエネルギーを切り換えながらプロダクトスキャン測定を行うことができる AMD 測定機能が有している。AMD 測定を用いれば、1 回の測定で複数のコリジョンエネルギーを同時に検討することが可能である。そこで、①で選択した候補プリカーサーイオンごとに各農薬の標準溶液(10 mg/L)を用いて AMD 測定を行い、各候補プリカーサーイオンのプロダクトイオンとコリジョンエネルギーの最適な組合せについて検討した。

最適な組合せを求めるために、ブランク試験溶液を同一条件で AMD 測定し、各検討対象農薬の保持時間付近における各プロダクトイオンのマスキンググラムからコリジョンエネルギーごとにノイズを求め、求めたノイズで対応するプロダ

クトイオンのイオン強度を除いた値を S/N 比とした。得られた結果から、プロダクトイオンの S/N 比とコリジョンエネルギーとの関係を求め、S/N 比が最大になるプロダクトイオン/コリジョンエネルギーの組合せを求めた。

この方法を用いて、各農薬の候補プリカーサーイオンごとに候補となるプロダクトイオンとコリジョンエネルギーの組合せを求め、結果を表 2 に示した。一つのプリカーサーイオンから複数のプロダクトイオンが生成するが、AMD 測定は候補プリカーサーイオンごとに独立して行われるため、この結果のみではどの MS/MS 条件が高感度であるか判断できない。比較するためには、各 MS/MS 条件を用いて同時に GC-MS/MS 測定する必要がある。今回は比較検討のために、表 2 に示した MS/MS 条件全てについて検討した。なお、検討では未解離のプリカーサーイオンもプロダクトイオンの対象に含めた。

### ③MS/MS 条件の選択

②で求めた複数の候補となる MS/MS 条件を用いて GC-MS/MS 同時測定を行い、ブランク試験溶液のノイズから求めた S/N 比を指標として、最適な MS/MS 条件を決定した。すなわち、各農薬の標準溶液(1 mg/L)とブランク試験溶液を同一条件で交互に測定して、各 MS/MS 条件における検討対象農薬のピーク高さ及び検討対象農薬の保持時間付近のブランク試験溶液のノイズを求め、ピーク高さをノイズで除して S/N 比を求めた。表 3 には MS/MS 条件の順位付けを S/N 比(a)及びピーク高さ(b)で行った場合の結果を示した。

## 1-2. MS/MS 条件選択法の比較

MS/MS 条件の選択に、開発した S/N 比を使用する方法を用いた場合と従来のピーク高さ(シグナル強度)を使用する方法を用いた場合について比較した。

プロモホスエチル、MPID 及びペンタクロロフェノールでは、両方法で順位が 1 位となった MS/MS 条件が一致した。しかし、これらの 3 農薬でも 2 位以降の条件については、ペンタクロロフ

ェノールが 2 位まで条件が一致した以外は、両方法間ですべて異なっていた。検討したその他の農薬については、両方法間ですべて異なる結果が得られた。

開発した MS/MS 条件選択法でノイズの指標に用いたブランク試験溶液は、リンゴ、オレンジ、ばれいしょ、キャベツ、ハウレンソウ、玄米、牛(筋肉)及び牛(肝臓)の 8 食品の試験溶液の等量混合物を使用している。そのため、果実、野菜、穀類及び肉類などの食品成分由来の主な夾雑ピーク及びノイズの影響が考慮された結果が得られることから、食品中の残留農薬分析において、妨害を受けにくかつ高感度な条件を得ることができると考えられる。一方、装置メーカーから提供される MS/MS 条件は、主に標準品のシグナル強度のみを指標にしている。また、開発した MS/MS 条件選択法で得られた結果と標準品のシグナル強度を指標とした方法で得られた結果を比較したところ、両者の結果は大きく異なっていた。装置メーカー等から提供される MS/MS 条件が、標準品のシグナル強度のみを指標にして求められている場合には、必ずしも食品中の残留農薬分析に最適な MS/MS 条件ではない場合があることが示唆された。

GC-MS/MS 測定で用いられるイオン化法である EI 法では、一般に多数のフラグメントイオンが生成するため、MS/MS 条件を検討する際、プリカーサーイオンの選択が困難になる場合がある。分子イオンがベースピークとして観察され他に強度の強いフラグメントイオンが観察されない場合(ビフェニル、ヘキサクロロベンゼン、2,4-ジクロロアニリン、*o*-フェニルフェノール及びペンタクロロフェノール)は、プリカーサーイオンに分子イオンを選択することで概ね問題ないと思われる。しかし、ジフェニルアミンも上記の条件を満たしているが、分子イオンから強度の強いプロダクトイオンが生成されなかったため、プリカーサーイオンとして、分子イオン以外のフラグメントイオンを選択したなどの例外も見られた。このほか食品成分によるノイズが大きい場合には、必ずしも分

子イオンがプリカーサーイオンに適していない場合も考えられるため、プリカーサーイオン選択の明確な規則性を見いだすことは困難であった。

表 4 には、最終的に得られた各農薬の上位 5 番目までの MS/MS 条件を示した。候補プリカーサーイオンの強度順に上位 3 イオンに限定すると、3 イオンのうちいずれかのイオンが MS/MS 条件の第一選択であったのは、検討した 29 農薬中 20 農薬(69%)であった。同様に MS/MS 条件の第二選択まででは 22 農薬(76%)、第三選択まででは 25 農薬(86%)であった。即ち、候補プリカーサーイオンの強度順に上位 3 イオンについて検討すれば、8 割程度の農薬については、MS/MS 条件の上位 3 条件のいずれかに該当していた。一方、クマホス、アミトラズ、エディフェンホス及びメトプレンは、MS/MS 条件の上位 3 条件までに該当するためには、候補プリカーサーイオンの強度順に、それぞれ 5、7、9 及び 12 番目のイオンまで検討する必要があった。この主な原因としては、メトプレンのようにベースピークが  $m/z$  100 未満の低質量側にあり、高質量側には強度の強いフラグメントイオンが観察されなかった場合、食品由来のノイズの影響で良好な S/N 比が得られなかった場合あるいは候補プリカーサーイオンから強度の強いプロダクトイオンが生成しなかった場合などがあげられる。

従って、必ずしも全ての農薬に適用できるとは限らないが、簡易的には候補プリカーサーイオンの強度順に上位 3 イオンについて検討すれば、残留農薬分析に適した MS/MS 条件をある程度求めることが可能であると考えられる。

## 2. LC-TOFMS 測定条件の検討

LC-TOFMS 測定では、測定する分子量範囲により最適な測定条件が異なることから、農薬分析に適した測定条件を求める必要がある。そこで、農薬の分子量範囲を想定し、検討対象農薬には、エテホン(M.W. 144.5)、クミルロン(M.W. 302.8)、フルメトリン(M.W. 510.4)、スピノシン D(M.W. 746.0)及びアベルメクチン 8,9 Z-異性体



B1a(M.W. 873.1)を用いた。また、検討した測定条件としては、使用した TOFMS 装置で設定可能でかつ化合物により最適値が異なると思われる、コーン電圧、アパーチャー1 電圧及びキャピラリー電圧の 3 種類を選択し、これらのパラメーターの測定感度に対する影響を検討した。なお、検討は、移動相に 10 mM 酢酸アンモニウム緩衝液及びアセトニトリル(1:1)混液を用いてフローインジェクション法で行った。

エテホン及びフルメトリンでは、強度の強いイオンとして脱プロトン化分子イオンが観察されたため ESI のネガティブモードで測定した。同様に、クミルロン及びスピノシン D では、プロトン付加分子イオンが観察されたため ESI のポジティブモードで測定した。アベルメクチン 8,9 Z-異性体 B1a では、脱プロトン化分子イオン、プロトン付加分子イオン及びアンモニウムイオン付加分子イオンが観察されたが、強度が最も強かったアンモニウムイオン付加分子イオンを ESI のポジティブモードで測定した。

#### ①コーン電圧

先ず、コーン電圧について検討した。コーン電圧の推奨値は、 $m/z$  500 までは 50 V、 $m/z$  1000 までは 100 V 程度とされていることから、25~125 V の範囲で、各農薬のピーク面積に対するコーン電圧の影響を検討した(図 2)。なお、アパーチャー1 電圧及びキャピラリー電圧はそれぞれ推奨値である 15 V 及び 3,000 V に設定した。その結果、検討した 5 農薬ともコーン電圧の上昇と共にピーク面積の減少が見られたため、以後の検討ではコーン電圧は 25 V を用いることにした。また、ピーク面積の減少の程度はエテホンで大きく、アベルメクチン 8,9 Z-異性体 B1a では緩やかであり、分子量が大きいほどより大きなコーン電圧が必要になる傾向が見られた。

#### ②アパーチャー1 電圧

次に、アパーチャー1 電圧について検討した。アパーチャー1 電圧の推奨値は 15 V とされていることから、5~50 V の範囲で、各農薬のピーク面積に対するアパーチャー1 電圧の影響を検討

した(図 3)。なお、コーン電圧及びキャピラリー電圧はそれぞれ 25 V 及び 3,000 V に設定した。その結果、アパーチャー1 電圧の最適値は、農薬によって異なり、エテホン -5 V、クミルロン 10 V、フルメトリン -15 V、スピノシン D 15 V 及びアベルメクチン 8,9 Z-異性体 B1a 10V であった。分子量が大きいほどより大きなアパーチャー1 電圧が必要になる傾向が見られたが、アベルメクチン 8,9 Z-異性体 B1a では分子量に依存しない結果が得られた。アパーチャー1 電圧は、イオンを検出器側に押し出すときの電圧であることから、質量の大きな分子ほど押し出すためにより大きなエネルギーが必要になるため、一般にアパーチャー1 電圧も分子量に依存して大きくなる。しかし、アパーチャー1 電圧を大きくすると、フラグメンテーションを起こしやすくなるため、農薬の構造によっては、高分子量であってもより低い電圧でフラグメンテーションを起こし、その結果感度が低下するためと考えられる。

#### ③キャピラリー電圧

キャピラリー電圧については、1,500~3,500 V (アベルメクチン 8,9 Z-異性体 B1a のみ 4,000 V まで検討)の範囲で、各農薬のピーク面積に対するキャピラリー電圧の影響を検討した(図 4)。コーン電圧は 25V に固定し、アパーチャー1 電圧は農薬ごとに先の検討で求めた値を用いて検討した。その結果、キャピラリー電圧の最適値は、エテホン -2,500 V、クミルロン 2,750 V、フルメトリン -2,750 V、スピノシン D 3,000 V 及びアベルメクチン 8,9 Z-異性体 B1a 3,500 V であり、分子量が大きい化合物ほどより大きなキャピラリー電圧が必要であった。

#### ④LC-TOFMS 測定条件

LC-TOFMS 測定は、LC-MS のスキャン測定と同様に連続してデータを取り込むため、原則として個々の化合物ごとにコーン電圧、アパーチャー1 電圧及びキャピラリー電圧を設定することは困難である。

特にキャピラリー電圧は、1回の測定の中で変更することはできないので、農薬測定に適した代

表的な条件を用いる必要がある。アベルメクチン 8,9 Z-異性体 B1a に適した 3,500 V では、検討した他の農薬すべてで感度が大きく減少した。2,500 V から 3,000 V の範囲では、3,000 V でエテホンの感度が減少するものの、クミルロン、フルメトリン及びスピノシン D はほぼ同様な挙動を示した。農薬の分子量は 800 を超えるものは少なく、大部分は 500 以下であることから、キャピラリー電圧は 2,500~3,000 V の中間の値である 2,750V が適切と考えられた。

コーン電圧については、今回の検討では 5 農薬とも 25 V でピーク面積が最大となった。高質量の化合物ではコーン電圧は高い方が望ましく、また推奨値から外れるため今回は 25 V より小さい値については検討しなかったが、最適値がより低い値にある可能性も示唆されたので、今後更に低い電圧まで範囲を広げて検討する必要があると思われる。

アパーチャー1 電圧については、構造による影響が大きいことが示唆され、分子量が同じであっても、農薬ごとにアパーチャー1 電圧の最適値が異なる可能性がある。そのため、農薬の種類を増やして各農薬のアパーチャー1 電圧の最適値を求め、農薬分析に適した条件について更に検討する必要があると思われた。

今回の検討から、農薬測定に適した LC-TOFMS 測定条件は、装置メーカーの推奨値と異なる場合があり、また農薬の分子量や構造に大きく依存していることがわかった。食品中の残留規制対象となる農薬は 600 を超えるため、今回の検討のみでは全ての農薬に最適な測定条件を求めることは困難であった。特に、アパーチャー1 電圧については、農薬の構造によって最適な条件が異なることから、できる限り多くの

農薬に適用可能な条件を求めるため、対象農薬数を増やしてより詳細な検討を行う必要があると思われる。

## D. 結論

### (1) GC-MS/MS 測定条件の検討

開発した MS/MS 条件選択法を様々な種類の 28 農薬に適用し、最適な MS/MS 条件を求めたところ、検討したほとんどの農薬で標準品のシグナル強度を指標とした従来の方法とは異なる結果が得られた。開発した MS/MS 条件選択法では、食品由来の夾雑成分による影響を考慮するために、食品のブランク試験溶液のノイズから求めた S/N 比を指標としているため、シグナル強度を用いた方法よりも、より高い選択性及び感度が期待できることから、食品中の残留農薬分析に適した MS/MS 条件を求めるのに有効な方法と考えられる。

### (2) LC-TOFMS 測定条件の検討

農薬分析に適した LC-TOFMS 測定条件を求めるために、農薬の分子量範囲の 5 農薬(分子量約 140~870)を用いて、測定パラメーター(コーン電圧、アパーチャー1 電圧及びキャピラリー電圧)の感度に対する影響について検討した結果、最適な測定条件は農薬の分子量や構造に大きく依存していることがわかった。LC-TOFMS 測定では、個々の化合物ごとに測定パラメーターを設定することは困難であるため、農薬測定に適した代表的な測定条件を求める必要がある。しかし、食品中の残留規制対象となる農薬は 600 を超えるため、できる限り多くの農薬に適用可能な測定条件を求めるには、対象農薬数を増やしてより詳細な検討を行う必要があると思われる。

表 1 検討対象農薬

No.	Pesticide	Molecular formula	M. W.	Structural formula
1	acephate	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>3</sub> PS	183.2	
2	aldrin	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub>	364.9	
3	amitraz	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub>	293.4	
4	azinphos-ethyl	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>	345.4	
5	biphenyl	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub>	154.2	
6	boscalid	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	343.2	
7	bromophos-ethyl	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> BrCl <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS	394.1	
8	butylate	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> NOS	217.4	
9	coumaphos	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> ClO <sub>5</sub> PS	362.8	
10	dichlorvos	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>4</sub> P	221.0	
11	dioxabenzofos	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub> PS	216.2	
12	diphenylamine	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> N	169.2	
13	edifenphos	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>	310.4	
14	endrin aldehyde	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub> O	380.9	
15	endrin ketone	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub> O	380.9	

表 1 検討対象農薬(続き)

No.	Pesticide	Molecular formula	M. W.	Structural formula
16	EPTC	C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> NOS	189.3	
17	ethoprophos	C <sub>8</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>	242.3	
18	fenamidone	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	311.4	
19	fenamidone-metabolite (MPID: 5-methyl-5-phenylimidazolidine-2,4-dione)	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	190.20	
20	hexachlorobenzene	C <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	284.8	
21	imibenconazole-metabolite (2,4-dichloroaniline)	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>2</sub> N	162.0	
22	imibenconazole-metabolite (imibenconazole des benzyl type)	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>4</sub> O	271.1	
23	methamidophos	C <sub>2</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>2</sub> PS	141.1	
24	methoprene	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	310.5	
25	omethoate	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>4</sub> PS	213.2	
26	o-phenylphenol	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O	170.2	
27	pentachlorophenol	C <sub>6</sub> HCl <sub>5</sub> O	266.3	
28	varidothion	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>4</sub> PS <sub>2</sub>	287.3	
29	oxychlorthane	C <sub>10</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>8</sub> O	423.8	