

Table 1. Retention time, monitor ion, detection limit, and elution of compounds from GPC and the SPE columns

Compound	NCI mode GC/MS				Dual-column GC- μ ECD			GPC elution volume (mL)	Elution rate ^b (%)			
	RT (min)	Ion set	Monitor ion (<i>m/z</i>)		Detection limit ^a (ng/g)	RT (min)			Detection limit (ng/g)	Carbotrap C/ Bondesil-PSA column	Presep-C Florisil	
			Target	Qualifier		Stx-CLP (μ ECD1)	Stx-CLP2 (μ ECD2)	Frac. 1			Frac. 2	
Beef tallow								15-24				
Mackerel oil								15-26				
Stearic acid								17-21	0			
Palmitic acid								18-22	0			
Decanoic acid								21-25	0			
Octanoic acid								22-26	0			
Astaxanthin								18-22	0			
α -HCH	11.42	1	70.9	72.9	0.005	9.30	10.98	0.007	28-32	93	95	0
Diazinon	12.47	1	169.0	170.0	0.1	10.22	11.99	0.1	23-27	92	96	0
γ -HCH	12.57	1	70.9	72.9	0.01	10.06	12.07	0.008	29-33	93	94	0
β -HCH	12.87	1	70.9	72.9	0.009	10.31	12.35	0.02	27-31	95	95	0
Dimethoate	13.03	1	157.0	159.0	0.05	10.96	12.51	0.1	35-39	96	0	81
Cyanophos	13.54	1	134.0	141.0	0.003	11.70	13.00	0.02	33-37	93	94	0
δ -HCH	13.87	1	70.9	72.9	0.02	10.76	13.30	0.01	26-30	99	95	0
Chlorothalonil	14.50	2	265.9	263.9	0.004	12.38	13.92	0.03	35-39	88	75	19
Chlorpyrifos-methyl	14.62	2	211.8	213.9	0.03	11.73	14.03	0.02	29-34	96	97	0
Vinclozolin	14.82	2	241.0	243.0	0.002	13.23	14.23	0.02	26-30	97	101	0
Tolclofos-methyl	15.01	2	249.9	251.9	0.06	12.06	14.41	0.03	30-34	98	99	0
Chlorpyrifos	16.19	3	312.9	314.9	0.04	13.05	15.53	0.03	26-30	100	94	0
Fenitrothion	16.42	3	168.0	277.0	0.2	14.01	15.76	0.04	32-36	102	98	0
Malathion	16.46	3	157.0	172.1	0.2	13.86	15.81	0.2	27-31	97	93	0
<i>p,p'</i> -Dichlorobenzophenone ^c	16.55	3	249.9	251.9		13.36	15.86					
Triadimefon	16.71	3	127.0	129.0	0.03	14.50	16.03	0.04	25-29	93	16	78
Fthalide	18.14	4	271.8	269.8	0.008	14.82	17.39	0.01	38-43	86	38	59
Bromophos-ethyl	18.36	4	357.8	355.8	0.1	14.96	17.62	0.02	25-29	96	96	0
Phenthoate	18.57	4	157.0	159.0	0.1	14.82	17.83	0.1	29-33	99	98	0
Triflumizole	18.68	4	286.0	288.0	0.3	16.95	17.94	0.1	23-28	97	0	102
α -Encosulfan	18.81	4	241.8	239.8	0.06	15.27	18.04	0.01	26-30	97	100	0
Procymidone	19.04	4	282.0	283.0	3	16.90	18.28	0.05	27-31	99	95	0
Captan	19.25	4	150.1	149.1	0.3	15.35	18.47	0.08	33-37	99	79	14
<i>p,p'</i> -DDE	19.36	4	317.9	315.8	4	15.26	18.63	0.01	26-30	96	98	0
Prothiophos	19.38	4	300.8	302.8	0.1	15.67	18.64	0.03	25-29	94	99	0
Hexaconazole	19.81	5	257.0	259.0	0.5	16.39	18.93	0.1	25-29	97	0	94
Diendrin	19.90	5	345.8	343.8	4	16.09	19.08	0.01	28-32	98	95	0
Buprofezin	20.23	5	136.0	137.0	0.7	16.40	19.43	0.7	24-28	95	93	0
Flutolanil	20.41	5	303.0	322.0	3	17.60	19.58	0.5	23-28	98	97	0
Oxadiazone	20.41	5	344.0	346.0	0.2	18.03	19.62	0.07	22-27	97	97	0
Kresoxim-methyl	20.94	6	174.1	107.0	0.1	16.00	20.13	0.05	28-33	89	94	0
Endrin	21.09	6	271.9	273.9	2	16.86	20.23	0.03	28-32	97	98	0
Isoprothiolane	21.14	6	262.0	264.0	0.09	16.60	20.31	0.05	31-35	94	5	95
Isoxathion	21.60	6	169.0	170.0	0.2	18.08	20.76	0.1	28-32	98	96	0
Myclobutanil	21.70	6	288.1	290.0	1	18.80	20.86	0.3	27-31	98	0	93
<i>p,p'</i> -DDD	21.73	6	70.9	72.9	0.3	17.34	20.87	0.02	26-30	96	97	0
β -Endosulfan	21.96	6	241.9	239.8	0.2	17.67	21.06	0.02	28-33	97	98	0
Chlorfenapyr	21.98	6	348.9	346.9	0.006	19.83	21.14	0.02	23-28	100	97	0
Ethion	22.35	6	185.0	187.0	0.08	18.24	21.49	0.07	24-28	101	104	0
β,β' -DDT	22.99	6	70.9	72.9	0.3	18.35	22.10	0.02	26-30	96	98	0
Endrin aldehyde ^d	23.36	6	271.9	269.9		19.25	22.44					
Iprodion metabolite	23.79	6	294.0	292.0	3	19.48	22.93	0.6	28-33	96	34	61
Endosulfan-sulfate	24.50	7	385.8	387.7	0.1	20.86	23.58	0.06	28-33	97	96	0
Bifenthrin	24.96	7	386.1	241.0	0.3	20.75	24.05	0.07	20-25	98	92	0
Bromopropylate	25.41	7	78.9	80.9	0.5	21.06	24.44	0.04	24-28	98	79	16
Dicofol	25.69	7	262.0	264.0	0.4	20.22	24.71	0.04	25-29	96	93	0
Iprodion	25.80	7	301.0	303.0	3	22.25	24.85	0.3	28-33	99	31	63
Fenpropathrin	26.25	7	141.1	142.1	0.05	22.37	25.29	0.1	23-28	102	98	0
Endrin ketone ^d	26.67	7	307.9	305.9		21.87	25.64					
Tetraflon	27.71	8	319.9	317.8	0.008	23.46	26.68	0.02	31-36	98	102	0
Cyhalothrin I	27.87	8	241.0	243.0	0.07	24.76	26.90	0.1	21-26	94	93	0
Azinathrin I	27.87	8	333.0	167.0	0.08	25.59	26.92	0.3	19-24	98	92	0

Table 1. Continued

Compound	NCI mode GC/MS				Dual-column GC μ ECD			GPC elution volume (mL)	Elution rate ^a (%)			
	RT (min)	Ion set	Monitor ion (m/z)		Detection limit ^b (ng/g)	RT (min)			Detection limit (ng/g)	Carbotrap C/ Boodesil-PSA column	Presep-C Florisil	
			Target	Qualifier		Stx-CLP (μ ECD1)	Stx-CLP2 (μ ECD2)	Frac. 1			Frac. 2	
Cyhalothrin 2	28.41	8	241.0	243.0		25.37	27.42	21-26	96	92	0	
Acrinathrin 2	28.43	8	333.0	167.0		26.18	27.46	19-24	98	96	0	
Fenarimol	29.00	8	276.0	276.0	0.06	23.77	27.92	28-33	86	25	69	
Permethrin 1	29.49	8	207.0	209.0	2	24.01	28.45	0.1	23-28	98	97	0
Acetamiprid	29.88	8	96.1	97.1	2	27.43	28.80	0.7	40-45	88	0	67
Permethrin 2	29.92	8	207.0	209.0		24.58	28.87		23-28	96	95	0
Pyridaben	30.31	8	217.0	219.0	0.4	25.14	29.23	0.2	23-28	97	97	0
Cyfluthrin 1	31.73	9	207.0	209.0	0.3	27.74	30.65	0.3	23-28	96	98	0
Cyfluthrin 2	32.03	9	207.0	209.0		28.19	30.95		23-28	98	97	0
Cyfluthrin 3	32.19	9	207.0	209.0		28.30	31.11		23-28	97	96	0
Cyfluthrin 4	32.33	9	207.0	209.0		28.62	31.25		23-28	100	98	0
Cypermethrin 1	32.40	9	207.0	209.0	0.5	27.82	31.31	0.3	23-28	98	95	0
Cypermethrin 2	32.72	9	207.0	209.0		28.29	31.65		23-28	99	97	0
Cypermethrin 3	32.87	9	207.0	209.0		28.36	31.80		23-28	97	97	0
Cypermethrin 4	33.02	9	207.0	209.0		28.70	31.96		23-28	96	98	0
Flucythrinate 1	33.17	9	243.0	199.1	0.2	29.09	32.13	0.2	23-28	94	98	0
Flucythrinate 2	33.66	9	243.0	199.1		29.59	32.69		23-28	99	96	0
Fenvalerate 1	34.70	9	211.0	213.0	0.1	29.72	33.94	0.2	23-28	104	100	0
Fluvalinate 1	34.96	9	294.0	296.0	0.1	31.37	34.34	0.5	20-25	103	97	0
Fluvalinate 2	35.12	9	294.0	296.0		31.47	34.58		20-25	101	106	0
Fenvalerate 2	35.22	9	211.0	213.0		30.28	34.66		23-28	99	102	0
Tralocmethrin 1	36.07	9	296.8	216.9	4	30.69	35.90	0.3	26-31	101	100	0
Difenoconazole 1	36.22	9	310.0	312.0	3	30.61	36.11	0.9	30-35	99	0	81
Difenoconazole 2	36.33	9	310.0	312.0		30.73	36.27		30-35	98	0	78
Tralocmethrin 2	36.62	9	296.8	216.9		31.32	36.79		26-31	97	100	0
Azoxystrobin	39.24	9	371.0	356.0	0.8	32.37	41.13	0.2	36-41	85	0	98

^a Detection limits calculated for a signal-to-noise ratio of 3 for standard solution (S/N=3).

^b Average of 3 experiments.

^c Degradation product of dicofol.

^d Degradation product of endrin.

類、牛乳、卵類などの畜水産物 120 検体を対象として、GC/MS や LC/MS/MS などを用いて実施した約 300 種農薬成分の残留実態調査では、46 検体から DDT 類、エンドスルファンおよび HCH 類など 41 種/延べ 143 成分が検出されている。そのうち 36 種/延べ 133 成分（全体の 93%）は、比較的残留性の高い塩素などのハロゲン原子を含むものや、同様に電子親和性を有するカルボニル基などを有するものであり、これらを選択的に検出可能な NCI モード GC/MS の有用性が示唆された。しかし、NCI モード GC/MS は、検量線の直線範囲が 2 オーダー程度と狭く、その上、GC 注入部の活性部位で生じるマトリックス効果⁹⁾によるピーク強度の上昇や、イオン化部で生じるマトリックスの共存下でのイオン化効率の変動によるものと考えられる測定値のばらつきも認められたことから、定量性の点で問題があると考えられた¹⁰⁾。そこで、NCI モード GC/MS に比べて選択性の点では劣るが、類似の検出特性を有し、従来の GC-ECD に比べて高感度かつ再現性に優れている GC μ ECD⁷⁾を用いて定量することにした。

¹⁰⁾ 日本食品衛生学会第 94 回学術講演会講演要旨集, p42 (2007).

今回、対象成分として、上述の実際に検出された成分に加えて、農薬の使用量¹¹⁾、安定性および脂肪組織への蓄積性 ($\log P_{ow}$ がおよそ 2 以上)¹⁰⁾ を考慮した上で、NCI モード GC/MS および GC μ ECD で検出可能な 78 種成分 (Table 1) を選択した。

2. 抽出

固体試料には、通知法と同様に脂肪組織を溶解しながら農薬成分を効率良く分配抽出するアセトン/ヘキサン抽出法を採用した。なお、アゾキシストロピンのような中程度の極性 ($\log P_{ow}$ がおよそ 2~3) を示す農薬成分の多くは、通知法での抽出率が 60~80% とやや低かった。そこで、抽出率を高めるために、実験方法に示したように水を減らしアセトンの割合を多くした。

液体試料には、脂質成分の抽出が少ないアセトニトリルを用いても農薬成分を効率良く分配抽出することが可能と考えられた。そこで、実験方法に示したように 125 mL 容の円筒形分液漏斗中に直接吸引する簡便なアセトニトリル抽出法⁴⁾を採用した。なお、アセトニトリルが少ない *pp*-DDE のような極性の低い農薬成分の抽出率が 60~80% とやや低かった。そこで、試料量を 10 g に減ら

し、アセトニトリルの割合を多くした。また、本抽出法では極性の高い夾雑物を減少させるために、アセトニトリル抽出液を濃縮後、酢酸エチルと無水硫酸ナトリウムを加えて脱水抽出する方法⁹⁾を追加した。

3. GPCによる精製

従来のGPCでは、内径20 mm、長さ40 cm程度の分離カラム、溶出液として20%程度のアセトンを含有するシクロヘキサンなどが用いられる^{3), 32-34)}。しかし、通知法のように溶出の速いアクリナトリンの保持時間から分取する条件では、試料注入時の粘度効果¹¹⁾による溶出の遅れもあり、中～長鎖脂肪酸類などの夾雑物を十分に除去できない。アセトンの割合を低くすることによって分配吸着作用が働き、分離能力は向上するが、溶出の遅いトリシラゾールまで分取する条件³²⁾では処理時間が長くなり、溶出液も多量に使用する。

そこで、粘度効果などを低減させるために、試料注入後、直ちにカラムオープン内に装着した金属コイルを通過させて加温するポストヒート配管を追加した。そして、溶媒の変化により膨潤度がほとんど変わらないとされるハードタイプゲルを用いた内径10 mm、長さ50 cmの分離カラム(25 cmカラムを2本連結)、および溶出液としてアセトン-シクロヘキサン(15:85)を用いることで、上述の夾雑物と農薬成分との分離を向上させるとともに、溶出液の使用量を従来のおよそ35%と大幅に削減した。なお、GPCの過負荷による分離能力の低下を防ぐために、残りのGPCへの負荷量を0.25 gまでとした。本GPCにおける代表的な夾雑物および農薬成分の溶出画分をTable 1に示した。

4. GPCの選別画分とSPEによる精製

分析上問題となるアスタキサンチンなどのカロテン類や脂肪酸類などの夾雑物は、本GPCにおいて14分(28 mL)までに溶出する(Table 1)。一方、14分以降に溶出する農薬成分の中には、フサライドやクロロタロニルなどグラファイトカーボンに保持されやすいものや、本報での対象成分ではないがトリクロロホンやホルクロルフェニルなどPSAに保持されやすいものも少なくない¹²⁾。

そこで、農薬成分の損失が少なく、かつ上述の夾雑物を除去するために、Fig. 1に示したようにGPCにおいて夾雑物が重なって溶出する10.2～14分(20.4～28 mL)の農薬画分のみを選別して、グラファイトカーボンとPSAを積層した二層式SPEカラムにより精製する方法を考案した。なお、市販のグラファイトカーボンカートリッジカラムは保持が強く、人体に有害とされるトルエンを使用しない溶出条件では多くの農薬成分で損失が認められたことから^{12), 13)}、保持の弱いものを微細晶セルロースで5倍に希釈して用いた。また、通知法に採用されているPSA(500 mg)カートリッジカラムは、サケなど脂肪酸類の多い試料において、脂肪酸類の影響と考えられるGCにおける保持時間の遅れが認められたことから1,000 mgを用いた。処理時間は、本SPEカラムへ負荷したのち、GPCの

流速を1.6倍に上げることでトリシラゾールの溶出まで23分と短縮した。Table 1に本SPEカラムからの試料成分および農薬成分の溶出率を示した。

5. フロリジルSPEによる追加精製

NCIモードGC/MSを用いて測定した結果、上述の精製法によって得られた試料溶液は、保持時間の遅れ、クロマトグラム上の妨害もほとんどなく多成分分析に供することが可能であった。しかし、GC- μ ECDは選択性の点で劣るため、試料によっては妨害ピークが出現し、定量が困難となる場合も見受けられた。

そこで、妨害ピークを大幅に減少させるために、フロリジルカートリッジカラムを用い、低～中程度の極性を有する農薬成分を溶出しながら多くの妨害成分を保持する第1画分の溶出溶媒としてジエチルエーテル-ヘキサン(50:50) 20 mL、次いでフロリジル固相に保持されているジメトエートなどの農薬成分を溶出させる第2画分の溶出溶媒としてアセトン-ヘキサン(30:70) 20 mLを用いる分画/精製法を追加した。Table 1にフロリジルカートリッジカラムからの農薬成分の溶出率を示した。

6. GCによる定性および定量

対象とした農薬成分に対してNCIモードGC/MSを採用した本分析法の感度、選択性は高く、多くの農薬成分において数ppbレベルでもほとんど妨害のないMSスペクトルが得られた。そこで、SIM/スキャン同時取込モードを採用した。また、GC- μ ECDには、1回の注入による測定で2種類のクロマトグラムが得られ、より確実な定性および定量を可能とするシングルインジェクション-デュアルカラム方式^{24, 25)}を採用した。

著者が用いたGC/MS装置は、MS部に導入される試薬ガスにより真空度が低下した。このためGC注入部でのマトリックス効果を低減するために有効な高圧注入^{5), 7)}には限界があった。これに対して、GC- μ ECDでは300 kPaの高圧注入を採用した。これによりシングルインジェクション-デュアルカラム方式と相まって、カラム流量が15 mL/minと非常に多くなり、高度に不活性化処理されたインサートなどの採用と、それを汚さない試料調製法との相乗効果もあって、ピーク強度の上昇、変動を大幅に抑えることができた。なお、特に妨害ピークが見当たらない場合には、極性の高い成分の保持が強く、対象成分を良好に分離したStx-CL.Pesticides 2カラムにより得られた μ ECDクロマトグラムにより定量した。Table 1に農薬成分の保持時間、SIM測定におけるイオンセットおよびモニタリーオン、標準溶液のクロマトグラムからS/N比が3を示す農薬量(異性体の場合、合計量)を求め、これを試料中の濃度に換算した検出限界値を示した。

実際の分析例として、残留実態調査²⁴⁾においてエンドスルフェンスルファートが4.3 ng/g検出されたサケのMSクロマトグラム(EIおよびNCIモード)とMSスペクトル(NCIモード)をFig. 2に、 μ ECDクロマトグラムをFig. 3に示した。このように、種々の畜水産物を対象とし

Table 2. Recoveries of spiked pesticides from animal and fishery products

Compound	Spiking level ($\mu\text{g/g}$)	Group	Recovery ^a (%)									
			Beef		Salmon		Shijimi clam		Milk		Egg	
			Av.	RSD ^b (%)	Av.	RSD (%)	Av.	RSD (%)	Av.	RSD (%)	Av.	RSD (%)
α -HCH	0.005	1	95.9	0.5	95.7	1.1	89.7	2.0	83.3	0.8	82.8	1.9
Diazinon	0.05	2	90.3	3.0	95.2	3.8	89.8	1.4	87.8	4.4	83.2	2.8
γ -HCH	0.005	1	98.7	1.0	96.9	1.7	93.6	1.2	87.0	1.1	87.1	1.5
β -HCH	0.005	1	93.8	3.4	91.2	1.7	94.6	1.1	87.8	3.4	86.0	2.0
Dimethoate	0.025	2	31.0	3.8	29.7	7.4	35.1	13.3	85.9	3.6	86.2	0.3
Cyanophos	0.005	2	90.0	3.9	93.5	3.7	85.5	3.3	89.2	0.7	82.9	2.7
δ -HCH	0.005	1	98.3	1.2	93.4	3.1	91.8	1.5	86.7	1.7	85.1	1.2
Chlorothalonil	0.005	1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	68.0	7.2	0.0	0.0
Chlorpyrifos-methyl	0.01	1	97.0	0.4	89.4	1.8	88.1	1.8	91.3	2.9	85.6	3.5
Vinclozolin	0.01	2	92.3	0.9	94.5	1.1	86.1	2.5	98.5	1.8	91.2	2.0
Tolclofos-methyl	0.01	2	95.6	4.1	92.1	6.1	87.4	4.4	93.5	0.9	87.4	0.6
Chlorpyrifos	0.01	1	95.7	1.0	89.7	0.8	87.8	1.8	89.0	1.5	86.6	3.1
Fenitrothion	0.01	1	89.7	1.3	87.5	1.1	83.3	2.2	89.1	0.3	85.4	4.4
Malathion	0.025	2	84.5	8.8	84.3	1.8	83.1	2.1	85.8	3.4	83.3	1.9
Triadimefon	0.01	2	84.2	3.0	89.7	4.3	88.1	1.9	102.6	1.1	82.5	2.0
Phthalide	0.005	1	87.7	6.9	79.4	1.1	78.7	2.0	94.5	2.2	90.9	2.2
Bromophos-ethyl	0.01	1, 2	97.0	0.3	93.3	2.0	93.1	1.1	90.5	2.3	92.3	3.3
Phenthoate	0.025	2	90.7	7.1	86.4	0.8	84.9	0.9	81.8	2.2	85.8	2.8
Triflumizole	0.025	1	101.3	2.6	91.9	2.4	98.9	4.3	96.9	8.9	93.1	8.8
α -Endosulfan	0.005	2	86.0	1.9	91.5	0.7	86.2	5.9	87.5	5.8	83.7	1.7
Procymidone	0.025	2	88.3	2.7	90.6	1.7	93.3	1.2	98.9	1.6	89.7	2.8
Captan	0.01	1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	47.9	5.6	0.0	0.0
p,p' -DDE	0.005	1	97.6	0.7	95.5	2.4	92.4	1.2	86.1	1.9	84.6	1.7
Prothiophos	0.01	1	97.0	0.8	91.4	0.8	88.6	1.2	82.5	0.9	89.3	5.6
Hexaconazole	0.01	2	78.0	0.9	83.4	2.3	90.4	1.4	99.2	5.4	90.6	2.7
Dieldrin	0.005	1	99.3	2.5	92.2	1.3	90.3	1.4	88.1	3.6	87.0	1.0
Euprofezin	0.05	1	93.9	2.4	88.4	2.3	85.6	3.7	82.1	1.6	86.0	1.3
Ficuzolani	0.05	1	93.9	1.8	92.8	3.2	88.4	2.5	93.7	0.7	87.9	2.6
Oxadiazone	0.01	2	90.8	1.2	91.5	2.8	90.8	2.6	98.0	1.9	85.4	1.1
Kresoxim-methyl	0.01	2	90.7	1.7	93.4	1.5	88.5	4.1	99.2	1.0	82.1	2.3
Endrin	0.01	1	100.1	2.5	91.6	1.0	90.2	1.5	97.6	1.6	92.5	1.8
Isoprothiolane	0.025	2	82.9	3.0	87.6	1.4	86.7	4.2	93.0	1.2	84.8	2.2
Isoxathion	0.025	1	94.4	1.7	87.4	1.3	86.3	2.7	91.6	3.6	88.3	4.8
Myclobutanil	0.05	2	76.8	2.3	88.7	2.0	79.5	2.3	88.8	5.0	90.0	3.2
p,p' -DDD	0.005	1	94.7	1.1	89.0	2.9	93.7	1.6	89.0	1.3	86.0	3.4
β -Endosulfan	0.005	2	88.0	3.3	92.7	3.8	86.3	5.8	97.1	1.4	86.5	4.7
Chlorfenapyr	0.025	1	97.5	2.3	95.3	1.0	95.3	0.6	92.9	1.8	94.6	1.5
Ethion	0.025	2	89.5	2.5	89.5	1.1	81.5	1.9	81.1	4.4	86.7	2.7
p,p' -DDT	0.005	1	95.3	1.7	88.5	1.5	88.5	1.4	90.2	1.9	85.4	2.0
Endosulfan sulfate	0.005	2	91.6	3.8	100.3	4.4	91.0	0.7	98.9	4.9	90.5	2.2
Bifenthrin	0.025	1	94.1	0.9	86.6	2.0	94.4	2.7	91.6	2.7	89.1	1.8
Bromopropylate	0.025	1	94.2	1.4	84.6	1.1	95.7	3.0	93.1	3.9	89.0	1.8
Dicofol	0.025	1	101.5	2.5	90.2	0.6	107.9	1.6	99.5	2.5	98.0	4.3
Iprodion	0.05	2	86.4	6.1	83.4	3.8	99.7	2.5	104.8	3.1	97.5	8.3
Fenpropathrin	0.05	1	96.3	1.6	88.6	2.3	100.6	1.8	93.0	2.4	93.2	1.1
Tetradifon	0.01	1	97.2	0.9	87.8	6.8	98.8	1.3	102.7	3.2	89.1	2.0
Cyhalothrin	0.025	2	91.1	1.5	95.7	3.5	95.3	3.7	98.9	2.0	93.0	1.9
Azinathrin	0.025	1	52.3	4.0	51.1	4.0	52.7	2.6	54.8	2.5	53.1	3.7
Fenarimol	0.01	2	81.5	3.0	90.0	7.5	98.9	2.5	105.3	2.9	93.0	7.0
Permethrin	0.05	1	95.5	0.8	85.7	1.4	98.6	0.7	100.6	2.6	87.7	7.6
Acetamiprid	0.05	2	10.6	7.4	12.6	19.2	11.9	17.2	60.8	9.5	63.6	5.6
Pyridaben	0.05	1	94.3	1.0	83.9	1.3	98.1	3.4	98.3	0.5	88.9	2.5
Cyfluthrin	0.05	2	84.2	3.6	94.6	2.7	97.2	8.3	99.6	2.7	92.3	4.3
Cypermethrin	0.05	1	92.5	2.9	85.1	1.6	90.7	3.7	84.4	1.0	89.0	1.7
Flucythrinate	0.025	2	81.5	4.4	92.1	0.7	103.9	5.0	91.5	3.4	89.0	3.2
Fenvalerate	0.025	1	92.5	1.1	82.3	1.8	90.3	4.6	81.6	2.4	86.1	3.5
Fluvalinate	0.025	2	82.6	3.2	82.3	1.5	96.6	4.1	102.3	1.4	85.5	1.5
Difenoconazole	0.05	2	94.8	3.0	94.8	5.3	87.2	9.1	92.9	9.7	91.9	1.4
Tralomeethrin	0.025	1	105.7	3.3	95.7	7.9	99.7	1.9	102.5	5.0	101.5	5.8
Azoxystrobin	0.05	1	101.7	4.5	99.0	3.0	96.8	5.8	103.4	5.1	102.9	4.5

^a Average of 5 experiments.^b RSD=relative standard deviation.

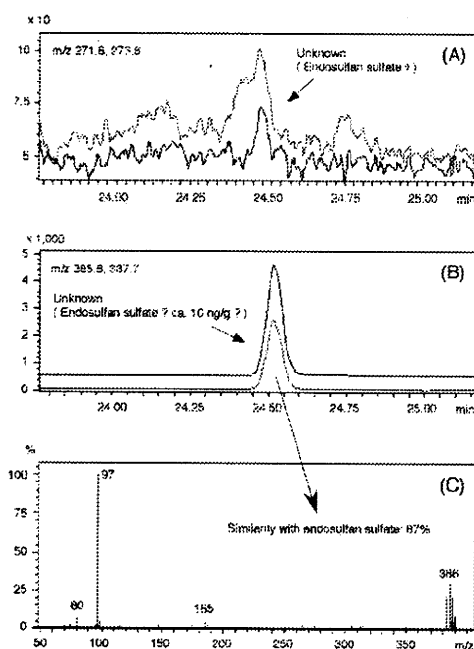


Fig. 2. MS chromatograms and MS spectrum of endosulfan sulfate found in a salmon extract: (A) EI-SIM mode GC/MS; (B, C) NCI-SIM/Scan mode GC/MS

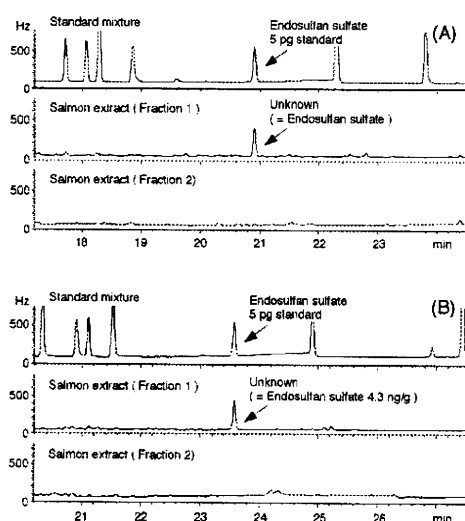


Fig. 3. μ ECD chromatograms of pesticide standard mixture and a salmon extract. (A) Six-CL-Pesticides 2 column (μ ECD1); (B) Six-CL-Pesticides 2 column (μ ECD2)

た残留実態調査において妨害となるようなピークは少なく、また、GC注入部の汚染によるピーク強度の減衰なども低いレベルであった。

7. 添加回収試験

代表的な畜水産物として牛肉、サケ、シジミ、牛乳および鶏卵に混合標準溶液 1 mL (試料中濃度 0.005~0.05 μ g/g) を添加後、1時間放置したものについて、GC- μ ECDにより測定し、回収率を求めた。その結果、Table 2 に示したように、クロロクロニル、キャプタン、ジメトエート、アセタミプリド、およびGPCでの溶出が速いアクリナトリンを除く農薬成分で、76.8~107.9% (中央値 90.7%) の回収率、0.3~9.7% (中央値 2.2%) の相対標準偏差が得られ、本分析法の良好な定量的性が確認された。クロロクロニルとキャプタンは試料成分の共存下での分解^{14,15)}、ジメトエートとアセタミプリドは $\log P_{ow}$ が 0.7~0.8 (25°C)¹⁰⁾ と極性が高く、アセトン/ヘキサン抽出およびフロリジル SPE での抽出率が低いと考えられた。

まとめ

NCIモードGC/MSおよびデュアルカラムGC- μ ECDによる畜水産物中残留農薬の頑健性を有し、高感度かつ定量的性に優れた多成分分析法を構築した。

1. 比較的残留性の高い、電子親和性を有する農薬成分を選択した上で、試料からアセトン/ヘキサンまたはアセトニトリルにより簡便に効率良く抽出する方法を考案した。
2. 内径 10 mm、長さ 50 cm の分離カラムなどを用いることで GPC の分離能力を向上させ、溶出液の使用量を大幅に削減することができた。
3. GPC の選別分離とグラフイットカーボン/PSA 二層式カラム SPE を組み合わせることで、多くの農薬成分で損失が少なく、かつ夾雑物を効率よく除去することができた。
4. フロリジルカートリッジカラム SPE により精製し、2画分とすることで、GC- μ ECD クロマトグラム上に出現する妨害ピークを大幅に減少させることができた。
5. NCI-SIM/スキャン同時取得モード GC/MS により確実に定性し、デュアルカラム GC- μ ECD により精度よく定量するシステムが構築できた。

本論文の一部は、日本食品衛生学会第 94 回学術講演会 (2007 年、静岡) において発表した。

謝辞

本研究は、平成 18、19 年度厚生労働科学研究費補助金 (食の安心・安全確保推進事業) により実施したものである。(財)残留農薬研究所の加藤保博氏、国立医薬品食品衛生研究所の根本了氏始め関係各位に感謝いたします。

文 献

- 1) Yamada, S., Saito, I., Oshima, H., Hayakawa, J. Application of silica gel column chromatography to analysis of PCBs, chlordanes, and organochlorine pesticides in fish and shellfish and meat. *Aichi Eisei Kenkyusho Ho (Rep. Aichi Inst. Pub. Hlth.)*, **46**, 13-21 (1996).
- 2) Ueno, E., Oshima, H., Saito, I., Matsumoto, H. Multiresidue analysis of pesticides in foods using acetonitrile extraction, GPC and mini column cleanup, and dual-column GC-ECD. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **41**, 178-187 (2000).
- 3) Kabashima, Y., Ueno, E., Oshima, H., Ohno, T. Application of gel permeation chromatography and silica gel column chromatography for analysis of PCBs, chlordanes, and organochlorine pesticides in stock farm and marine products. *Aichi Eisei Kenkyusho Ho (Rep. Aichi Inst. Pub. Hlth.)*, **57**, 55-64 (2007).
- 4) Ueno, E., Oshima, H., Matsumoto, H., Saito, I., Tamura, H. Determination of spinosad in vegetables and fruits by high-performance liquid chromatography with UV and mass spectrometric detection after gel permeation chromatography and solid-phase extraction cleanup on a 2-layered column. *J. AOAC Int.*, **89**, 1641-1649 (2006).
- 5) Ueno, E. Application of dual column GC for pesticide residues analysis in foods. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **47**, J-299-J-304 (2006).
- 6) Erney, D. R., Gillespie, A. M., Gilvydis, D. M., Poole, C. F. Explanation of the matrix-induced chromatographic response enhancement of organophosphorus pesticides during open tubular column gas chromatography with splitless or hot on-column injection and flame photometric detection. *J. Chromatogr.*, **688**, 57-63 (1993).
- 7) Ueno, E., Kabashima, Y., Oshima, H., Ohno, T. Multi-residue analysis of pesticides in foods by gas chromatography with micro-electron capture detector. *Aichi Eisei Kenkyusho Ho (Rep. Aichi Inst. Pub. Hlth.)*, **58**, 19-27 (2008).
- 8) 日本植物防疫協会編 (農林水産省消費・安全局農産安全管理課・植物防疫課監修) "農業要覧 2005" 東京, (社)日本植物防疫協会, 2005.
- 9) 日本植物防疫協会編 (農林水産省消費・安全局農産安全管理課・植物防疫課監修) "農業要覧 2006" 東京, (社)日本植物防疫協会, 2006.
- 10) Tomlin, C. D. S. eds. *The Pesticide Manual 14th ed.*, UK, British Crop Protection Council, 2006.
- 11) Lesec J., Flow fluctuations in GPC-viscometry. *J. Liq. Chromatogr.*, **17**, 1011-1028 (1994).
- 12) Ueno, E., Oshima, H., Saito, I., Matsumoto, H., Yoshimura, Y., Nakazawa, H. Multiresidue analysis of pesticides in vegetables and fruits by gas chromatography/mass spectrometry after gel permeation chromatography and graphitized carbon column cleanup. *J. AOAC Int.*, **87**, 1003-1015 (2004).
- 13) Kakimoto, Y., Ohtani, Y., Funaki, N., Joh, T. Simultaneous determination of pesticide residues in fruits and vegetables by GC/MS (SCAN mode) and HPLC. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **44**, 253-262 (2003).
- 14) Kobayashi, H. The approach to pesticide performance in analytical procedure. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **42**, J-331-J-336 (2001).
- 15) 農薬残留分析法研究班編 "最新農薬の残留分析法" 東京, 中央法規出版, 2006, p. 142-144, 189-191. (ISBN 4-8058-2782-3).

ノート

LC-MS/MS による餃子中の農薬一斉分析法の検討

(平成 20 年 7 月 15 日受理)

岡本 葉^{1,*} 高取 聡¹ 北川陽子¹ 起橋雅浩¹ 福井直樹¹
村田 弘¹ 住本建夫¹ 田中之雄² 尾花裕孝¹

Determination of Pesticides in Chinese Dumplings Using
Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

You OKAMOTO^{1,*}, Satoshi TAKATORI¹, Yoko KITAGAWA¹, Masahiro OKIHASHI¹, Naoki FUKUI¹,
Hiroshi MURATA¹, Tatsuo SUMIMOTO¹, Yukio TANAKA² and Hirotaka OBANA¹

¹ Osaka Prefectural Institute of Public Health: 1-3-69 Nakamichi, Higashinari-ku,
Osaka 537-0025, Japan;

² Osaka Food Hygiene Association: 2-11-13 Sangenyahigashi, Taisyō-ku,
Osaka 551-0002, Japan; * Corresponding author

A rapid and easy multiresidue method for determination of pesticide residues in Chinese dumplings using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) has been developed. Pesticide residues were extracted with ethyl acetate in the presence of anhydrous magnesium sulfate in a disposable tube using a homogenizer. The extract was concentrated and reconstituted in hexane, followed by acetonitrile-hexane partition to remove lipids. The acetonitrile layer was purified with a double-layered cartridge column (graphite carbon black/primary secondary amine silica gel). After removal of the solvent, the extract was resolved in methanol/water and analyzed with LC-MS/MS. Recovery tests of 99 pesticide residues from Chinese dumpling were performed at 20 and 100 ng/g, and 72 pesticides exhibited acceptable recoveries (70-120%) with low relative standard deviations (<20%) at both concentrations. The time for sample preparation with 12 samples to test solutions was approximately 6 hr. This method could be useful for determination of pesticide residues in the Chinese dumplings.

(Received July 15, 2008)

Key words: 農薬 pesticide; 一斉分析法 multi-residue analysis; 餃子 Chinese dumpling; 液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析法 LC-MS/MS; 迅速分析 rapid determination

緒 言

わが国において、農産物中に残留する農薬には食品衛生法で残留基準（基準値）が設定されており、検査所および各都道府県の衛生研究所などにおいて市場流通品に対して検査が実施されている。また、検査を効率よく行うため、迅速で簡便な残留農薬一斉分析法が数多く考案され、活用されている^{1)~5)}。しかし、餃子など、複数の食材から加工される食品においては、残留農薬の基準値が設定されていないため、ほとんど検査されていないのが実状であった。こうした状況で、加工食品を対象とした検査を実施する場合、加工食品の中には脂質を多く含むものもあり、残留農薬の抽出および測定が困難であることが考えられる。さら

に、農薬が検出されてもどの食材に起因するか、特定が困難であることが、検査を行う上で問題となる。しかしながら、冷凍餃子をはじめ、加工食品からも有機リン系農薬の検出が相次いで報告されている^{*1}。食の安全に対する関心が高まるなか、農産物だけでなく、加工食品中の残留農薬も、迅速かつ精度よく測定することが求められている。

農産物中のメタミドホス分析法については、「アセフェート、オメトエートおよびメタミドホス試験法」が厚生労働省から通知されている。当該分析法では、試料を無水硫酸ナトリウム存在下、酢酸エチルで抽出後、シリカゲルで精製し、ガスクロマトグラフで分析する。また、加工食品における残留農薬については、平成 20 年 2 月 4 日にメタミドホス、3 月 7 日に有機リン系を対象とした分析法

* 連絡先

¹ 大阪府立公衆衛生研究所：〒537-0025 大阪市東成区中道 1-3-69

² 社団法人大阪食品衛生協会食品検査センター：〒551-0002 大阪市大正区三軒家東 2-11-13

*¹ しめさば・肉まんから検出 (<http://www.mhlw.go.jp/houdou/2008/02/h0219-3.html>).

冷凍食品から検出 (<http://www.mhlw.go.jp/houdou/2008/02/h0220-3.html>)

が厚生労働省から示された^{*2}。しかしながら、加工食品における残留農薬一斉分析法が構築されるまでには至っていない。松本らにより提案されている加工食品原材料における簡易前処理法⁶⁾は、加工食品に適用するには精製が不十分であり、多検体を分析する際には、分析機器への悪影響が危惧される。そこで、分析時に妨害となりうる脂質などの成分の除去に重点をおき、精製方法を改善することが必要と考えられる。

今回、著者らは、餃子中の残留農薬の一斉分析法として、酢酸エチルで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配法および固相抽出によって精製し、LC-MS/MSで分析する方法を考案した。対象農薬は、LC-MS/MSを用いた農産物中の残留農薬一斉分析法の検討⁷⁾の際に選択した99農薬に準じた。この99農薬は、GC/MSで測定が困難な農薬を含む、LC-MS/MSで高感度に測定可能な農薬を中心とした。また、同法を用いて市場流通商品の実態調査を行ったので、併せて報告する。

実験方法

1. 試料

国産の冷凍餃子をフードプロセッサにより細切均一化して使用した。使用に先立って評価対象とする農薬が含まれないことを確認した。本品は、試験まで -20°C で保存した。実態調査を行うにあたり、国内に流通している冷凍、チルドおよびレトルト食品を大阪市内の食品販売店から入手した。これら実態調査用試料についても、同様に細切均一化し、今回構築した分析方法を用いて定量分析を行った。

2. 試薬

標準品は、残留農薬分析用標準品もしくはその同等品を和光純薬工業株式会社（大阪）、関東化学株式会社（東京）、林純薬工業株式会社（大阪）、Riedel-de-Haën (Seelze, Germany)およびDr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany)から購入して用いた。各農薬標準品をアセトンに溶解して $1,000\ \mu\text{g}/\text{mL}$ に調製した。これらを混合し、アセトニトリルで $5\ \mu\text{g}/\text{mL}$ になるように、農薬標準混合溶液を調製した。これを適宜メタノールで希釈して添加回収試験および検量線の作成に用いた。

酢酸エチル、アセトニトリル、アセトン、ヘキサン、トルエンおよびメタノールは、残留農薬分析用（和光純薬）を用いた。無水硫酸マグネシウムは、特級を用いた（和光純薬）。ギ酸は、HPLC用を用いた（和光純薬）。グラファイトカーボン/PSA積層カラムカートリッジは、Supelco (Bellefonte, PA, USA)社製のENVI-CarbII/PSA (500/500 mg)を用いた。

3. 装置

フードプロセッサ：SQ-7（東芝）

高速ホモジナイザー：ポリトロンPT10（KINEMAT-

ICA, Littau-Lucerne, Switzerland)

遠心分離器およびローター：himacSCR 20BおよびR12A5（日立）

LC-MS/MS: LC, 1100 Series (Agilent); MS/MS, API 3000 (Applied Biosystems)

4. 測定条件

4.1 HPLC条件

カラム, ASCENTIS C18, $2.1 \times 100\ \text{mm}$, $3\ \mu\text{m}$ (Supelco); カラム温度, 40°C ; 移動相, (A) 0.1% ギ酸水溶液, (B) 0.1% ギ酸含有メタノール溶液; グラジエント条件, (B) 25 \rightarrow 95% (12 min, リニア) \rightarrow 95% (8 min, 保持); 流速, $200\ \mu\text{L}/\text{min}$; 注入量, $5.0\ \mu\text{L}$

4.2 MS条件

イオン化法: ESI (+), 分析モード: MRM, イオンスプレー電圧: $4.0\ \text{kV}$; イオン源温度: 450°C ; 評価対象農薬 (99種類) および測定条件は Table 1 に記した⁷⁾。

5. 実験操作

Scheme 1 に概要を示した。均一化した餃子 $5.0\ \text{g}$ をポリプロピレン (PP) 製遠心管に採取した。これに酢酸エチル $20\ \text{mL}$ および無水硫酸マグネシウム $3\ \text{g}$ を添加して、高速ホモジナイザーで30秒間ホモジナイズした。遠心分離後、酢酸エチル層 $8.0\ \text{mL}$ (試料 $2.0\ \text{g}$ 相当) を $100\ \text{mL}$ ナス型フラスコに分取し、減圧濃縮した。窒素気流下で一定重量に安定するまで乾固した。これをヘキサン $10\ \text{mL}$ に溶解してPP製遠心管に移し、ヘキサン飽和アセトニトリル $20\ \text{mL}$ を加えて1分間振とう攪拌した。遠心分離後、アセトニトリル層をあらかじめアセトニトリル-トルエン (3:1) 混液でコンディショニングしたENVI-CarbII/PSAカラムに負荷した。残ったヘキサン層に再度ヘキサン飽和アセトニトリル $20\ \text{mL}$ を加えて1分間振とう攪拌し、遠心分離後、アセトニトリル層を再度ENVI-CarbII/PSAカラムに負荷した。カラムは、アセトニトリル-トルエン (3:1) 混液 $30\ \text{mL}$ で溶出した。負荷時の通過液および溶出液は、すべてナス型フラスコに回収し、減圧濃縮した。窒素気流下で乾固し、メタノールで $2\ \text{mL}$ (試料成分換算: $1\ \text{g}/\text{mL}$) に定容した。このメタノール溶液 $2\ \text{mL}$ のうち $0.5\ \text{mL}$ を試験管に採取し、25%メタノール水溶液で $5.0\ \text{mL}$ (試料成分換算: $0.1\ \text{g}/\text{mL}$) に定容した。

6. 添加回収試験

均一化した餃子に対し、農薬混合溶液 ($1,000$ または $5,000\ \text{ng}/\text{mL}$; $100\ \mu\text{L}$) を添加し、本法に従って操作し、添加回収率を求めた ($n=5$)。

結果および考察

1. 定量下限および検量線

分析対象農薬のうち、フルフェノクスロン、ルフェメロン、ペントキサゾンおよびプロピコナゾールのLC-MS/MS上の定量下限 (IQL, instrument quantification limit; シグナル/ノイズ比 >10 で規定) は、 $2.0\ \text{ng}/\text{mL}$ で

*2 <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/bukyoku/iyaku/syokuzanzen/zanryu3/dl/080307-1.pdf>

Table 1. LC-MS/MS parameters

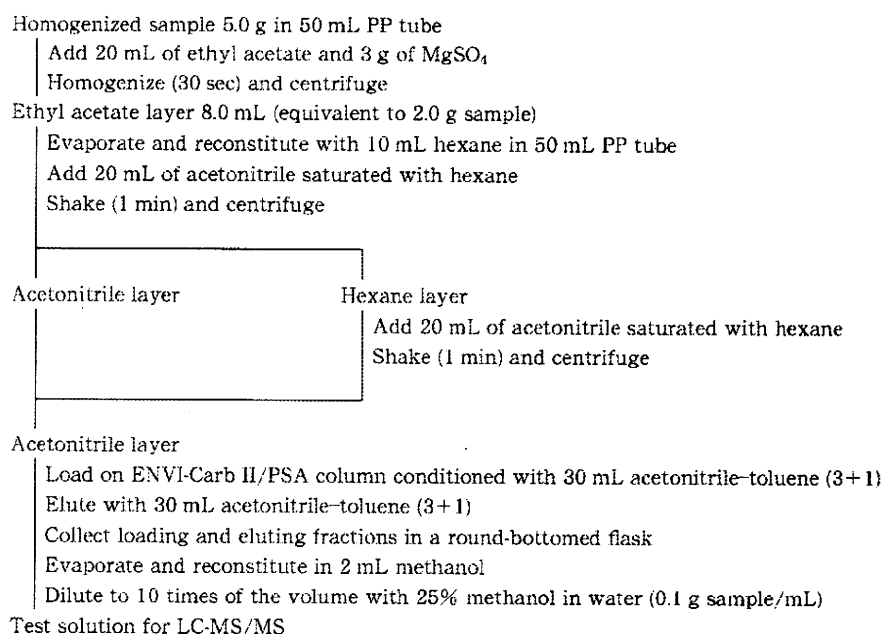
Pesticide	Transition, m/z Q1>Q3 ^{a)}	IQL ^{b)} (ng/mL)	Pesticide	Transition, m/z Q1>Q3 ^{a)}	IQL ^{b)} (ng/mL)
Acephate	184→143	0.5	Imibenconazole	413→125	1
Acetamiprid	223→126	1	Inabenfide	339→321	0.2
Acetochlor	270→224	0.2	Indanofan	341→175	0.5
Aiachlor	270→238	1	Iprovalicarb	321→119	0.2
Allethrin	303→135	0.5	Isoprocarb	194→95	0.1
Atrazine	216→174	0.1	Isoprothiolane	291→231	0.2
Azoxystrobin	404→372	0.1	Isoxathion	314→105	0.2
Bendiocarb	224→167	0.2	Lufenuron	511→158	2
Benfuresate	257→163	1	Mefenacet	299→148	0.1
Bensulide	398→356	0.2	Mepanipyrim	224→106	0.2
Bitertanol	338→269	0.5	Metaixyl	280→190	0.2
Bromobutide	312→194	0.1	Methabenzthiazuron	222→165	0.2
Bupirimate	317→166	0.2	Methamidophos	142→94	1
Buprofezin	306→201	0.2	Methomyl	163→88	0.5
Cafenstrole	351→100	0.2	Metolcarb	166→109	0.5
Carbaryl	202→145	0.2	Molinate	188→126	0.2
Carbofuran	222→165	0.2	Monocrotophos	224→193	0.2
Carfentrazone-ethyl	412→346	0.5	Napropamide	272→129	0.2
Chlorpropham	214→172	0.5	Omethoate	214→183	0.1
Clomeprop	326→120	1	Oxamyl	237→72	0.5
Cumyluron	303→185	0.5	Pacrobutrazol	294→70	0.2
Cyanazine	241→214	0.5	Penconazole	284→70	0.2
Cyflufenamid	413→295	0.5	Pencycuro	329→125	0.5
Cyhalofop-butyl	358→256	0.5	Pentoxazone	354→286	2
Daimuron	269→151	0.1	Phenmedipham	301→168	0.1
Diethofencarb	268→226	0.2	Phoxim	299→129	1
Difenoconazole	406→251	0.5	Pirimicarb	239→182	0.1
Diflubenzuron	311→158	0.1	Pretilachlor	312→252	0.2
Diflufenican	395→266	0.2	Prochloraz	378→310	0.2
Dimepiperate	264→146	0.1	Propamocarb	189→102	0.2
Dimethametryn	256→186	0.2	Propiconazole	342→159	2
Dimethoate	230→199	0.2	Propoxur	210→111	0.2
Dimethomorph	388→301	0.2	Propyzamide	256→90	0.5
Diphenamid	240→134	0.1	Pyriproxyfen	322→96	0.1
Esprocarb	266→91	0.2	Pyroquilon	174→132	0.5
Ethiofencarb	226→107	0.5	Quinoclamine	208→105	1
Ethofumesate	287→121	0.2	Quizalofop-ethyl	373→299	0.5
Etobenzanid	340→179	0.2	Tebuconazole	309→70	0.2
Fenarimol	331→81	1	Tebufenozide	353→297	0.2
Fenbuconazole	337→125	0.5	Tebufenpyrad	334→145	0.2
Fenobucarb	208→95	0.2	Teflubenzuron	383→158	0.5
Fenoxaprop-ethyl	362→288	0.2	Thenylchlor	324→127	0.2
Fenoxycarb	302→116	0.2	Thiachroprid	253→126	0.5
Fenpropimorph	304→147	0.2	Thiobencarb	258→125	0.2
Flufenoxuron	489→158	2	Triadimefon	294→197	0.5
Flusilazole	316→247	0.2	Triadimenol	296→70	0.5
Furathiocarb	383→195	0.1	Tri-allate	306→86	0.2
Hexaconazole	314→70	0.1	Trichlamide	340→121	1
Hexaflumuron	463→158	0.5	Triflumizole	346→278	0.5
Imazalil	297→159	0.5			

^{a)} Q1, precursor ion; Q3, product ion

^{b)} IQL, instrument quantification limit

あった。その他の農薬の IQL は、0.1~1.0 ng/mL であった。本法では、イオン化抑制/促進を緩和するため、試験液を試料成分換算で 0.1 g/mL に希釈した。このため、フルフェノクスロン、ルフェヌロン、ペントキサゾンおよびプロピコナゾールの定量下限は、20 ng/g となり、その

他の農薬は、一律で 10 ng/g とした。定量には、マトリックスを含まない標準混合溶液の希釈系列を 25% メタノール水溶液となるよう調製した。当該検量線については、IQL (0.1~2.0)~50 ng/mL の範囲で直線性が認められ、検量線の決定係数 R^2 は、0.98~1.00 であった。



Scheme 1. Flow chart of the method

2. 前処理法の検討

前述のとおり，加工食品は，農産物に比べて脂質を多く含むものもある。厚生労働省による「LC/MSによる農薬等の一斉分析法IおよびII」で抽出に用いているアセトニトリルは，脂質溶解能力が低く，加工食品に多く含まれる脂質の抽出が不完全となる可能性が考えられる。そこで，脂質を効率良く抽出することを期待して，酢酸エチルを抽出溶媒に用いた。また，吸水試薬として無水硫酸ナトリウムより高い吸水能力を有する⁸⁾ 無水硫酸マグネシウムを活用した。

これまでに，農産物に比べて脂質含量の高い加工食品や油脂類に対しては，ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)^{9)~12)}，あるいはアセトニトリルおよびヘキサンを用いた液-液分配(アセトニトリル/ヘキサン分配法)^{13)~15)}により脂質を除去する方法が提案されている。しかしながら，GPCを用いた方法は，多検体を処理する場合は長時間を要し，溶媒を大量に使うことが欠点として挙げられる。一方，アセトニトリル/ヘキサン分配法においては，比較的少量の溶媒で，脂質を効果的に除去することが可能となる。また，小スケールのために並列的な操作を行うことが可能となり，それゆえ多検体処理が迅速である。そこで，本法ではアセトニトリル/ヘキサン分配法を採用した。さらに，色素，脂肪酸およびカロチンなどを除去するために固相(ENVI-CarbII/PSA)による精製を行った。本精製後の全試料に対する残さ重量は，0.1%未満であった。アセトニトリル/ヘキサン分配および精製を行う前の残さ重量が8.9%であったことから，当前処理において，餃子中の脂質除去が十分であると考えられる。

加工食品中の残留農薬の分析法は，モニタリング調査の

みならず，農薬混入事件発生の際の対応分析法としての活用も期待されることから，操作の簡便性と迅速性を重視した。近年，農産物中の残留農薬の一斉分析法では，分析精度を保ちつつ操作の簡便性と迅速性を達成した QuEChERS 法が国内外で注目されている⁶⁾。操作の簡便性と迅速性の一部は，使い捨ての PP 製遠心管を使用し，液相の分離に遠心分離を活用する点にある。本法においても，抽出およびアセトニトリル/ヘキサン分配操作に PP 製の遠心管を活用し，操作過程の簡便および迅速化を図った。その結果，一人の実験者が 12 検体を同時処理する場合，試料の採取から試験液の調製に要した時間は，およそ 6 時間であり，緊急の分析要請に耐えうるものと考えられる。また，数百~千 $\mu\text{g/mL}$ に達する高濃度の事例に関しては，2008 年 2 月に厚生労働省より提唱された食品中に残留する農薬メタミドホスに係る試験法にならない，精製操作を省いて酢酸エチル抽出液をメタノールに置換および希釈して分析することでより迅速に対応できると思われる。

3. 添加回収試験

餃子に対する添加回収試験は，20 および 100 ng/g の 2 濃度で試行数 5 にて実施した。試験結果に基づき，評価対象農薬を 4 段階の分類表にまとめた。すなわち，20 および 100 ng/g 添加の双方の濃度において，良好な結果(回収率，70~120%; RSD, 20% 未満)となった農薬(カテゴリー 1)，100 ng/g 添加の濃度のみにて良好な結果となった農薬(カテゴリー 2)，100 ng/g 添加の濃度のみにて検出に支障がないと考えられる結果(回収率，50~69%および 121~150%; RSD, 20% 未満; ただし，カテゴリー 1 および 2 は含まない)となった農薬(カテゴリー 3) およびカテゴリー 1, 2 および 3 以外(カテゴ

Table 2. Pesticides categorized by recovery and precision

Category 1			Category 2	Category 3
Recovery, 70-120%; RSD, <20% at 20 and 100 ng/g			Recovery, 70-120% RSD, <20% at least 100 ng/g	Recovery, 50-69 or 121-150%; RSD, <20% at least 100 ng/g
Acetochlor	Dimethomorph	Monocrotophos	Acetamiprid	Cumyluron
Alliethrin	Diphenamid	Napropamide	Acephate	Esprocarb
Atrazine	Ethofumesate	Omethoate	Alachlor	Methamidophos
Azoxystrobin	Etobenzanid	Paclobutrazol	Clomeprop	Oxamyl
Benfuresate	Fenarimol	Penconazole	Cyflufenamid	(4 compounds)
Bensulide	Fenbuconazole	Pencycuron	Fenobucarb	
Bitertanol	Fenoxycarb	Pirimicarb	Flufenoxuron	
Bromobutide	Fenoxaprop-ethyl	Pretialachlor	Imazalil	
Bupirimate	Flusilazole	Prochloraz	Lufenuron	Category 4
Buprofezin	Furathiocarb	Propoxur	Pentoxazone	Pesticides could not categorize as 1-3
Cafenstrol	Hexaconazole	Pyriproxyfen	Phoxim	
Carfentrazon-ethyl	Hexaflumuron	Pyroquilon	Propyzamide	
Carbaryl	Imibenconazole	Quizalofop-ethyl	Quinoclamine	Bendiocarb
Carbofuran	Inabenfide	Tebuconazole	Tebufenpyrad	Ethiofencarb
Chlorpropham	Indanofan	Tebufenozide	Triflumizole	Fenpropimorph
Cyanazine	Iprovalicarb	Teflubenzuron	(15 compounds)	Molinate
Cyhalohop-butyl	Isoprocarb	Thenylchlor		Phenmedipham
Daimuron	Isoprothiolane	Thiachroprid		Propamocarb
Diethofencarb	Isoxathion	Thiobencarb		Propiconazole
Difenoconazole	Mefenacet	Tri-allate		Trichlamide
Diflubenzuron	Mepanipyrim	Triadimefon		(8 compounds)
Diflufenican	Metalaxyl	Triadimenol		
Dimepiperate	Methabenzthiazuron	(72 compounds)		
Dimethametryn	Methomyl			
Dimethoate	Metolcarb			

リー4)に分類した(Table 2)。

カテゴリー1に分類される農薬数は72であり、これらについては、10 ng/gの基準値の評価も可能と考えられる。カテゴリー2に分類される農薬数は15であり、これらについては、50~100 ng/gの基準値の評価は可能と考えられる。カテゴリー3に分類される農薬数は4であり、高濃度の検出事例についてのみ、その農薬の存在を確認する目的で測定可能である。カテゴリー4に分類される農薬数は8であり、これらを正確に検出および定量するためには、他の分析機器を活用するもしくは、分析法の改良などの処置が必要であると考えられる。IQLが2 ng/gである4農薬(フルフェノクスロン、ルフェスロン、ペントキサゾン、プロピコナゾール)は、カテゴリー2または4に分類された。カテゴリー2に分類されたフルフェノクスロン、ルフェスロン、ペントキサゾンにおいては、本分析法において試験液を10倍希釈した場合、20 ng/g添加試料は、2 ng/mL相当となり、IQL相当の濃度域で定量することとなる。したがって、低濃度域では正確な定量が困難となり、ばらつきも出やすくなったと考えられる。

4. 餃子中残留農薬の実態調査

本法を用いて、カテゴリー1に分類された農薬について、市販の冷凍またはチルドの餃子(10検体; 国産9検体、不明1検体)を分析した。また、餃子に類似する試

料として、冷凍またはチルドの焼売(8検体; 国産7検体、不明1検体)も選定し、併せて分析した。その結果、農薬はいずれの検体からも検出されなかった。

今回は、餃子中毒事件の発生を受けて餃子や焼売を試料としたが、高濃度に含まれる農薬による中毒事件の発生、または中毒事件まで至らなくても、材料として使われる野菜への農薬の残留を想定して、加工食品中の農薬の一斉分析法を確立することが最終的な課題である。そこで、餃子以外の加工食品についても本法が活用可能か検討する必要がある。検討に用いる試料として、電子レンジや鍋・フライパンなどで簡単に調理可能である冷凍、チルドおよびレトルト食品のうち、代表的なものを対象とした本分析法の適応について、検討を行っている。

文 献

- 1) Luke, M. A., Froberg, J. E., Masumoto, H. T. Extraction and cleanup of organochlorine, organophosphate, organonitrogen, and hydrocarbon pesticides in produce for determination by gas-liquid chromatography. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 58, 1020-1026 (1975).
- 2) Fillion, J., Sauve, F., Selwyn, J. Multiresidue method for the determination of residues of 251 pesticides in fruits and vegetables by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography with fluorescence detection. J. AOAC Int., 83, 698-713 (2000).

- 3) Ueno, E., Oshima, H., Saito, I., Matsumoto, H., Yoshimura, Y., Nakazawa, H. Multiresidue analysis of pesticides in vegetables and fruits by gas chromatography/mass spectrometry after gel permeation chromatography and graphitized carbon column cleanup. *J. AOAC Int.*, **87**, 1003-1015 (2004).
- 4) Okihashi, M., Kitagawa, Y., Akutsu, K., Obana, H., Tanaka, Y. Rapid method for the determination of 180 pesticide residues in foods by gas chromatography/mass spectrometry and flame photometric detection. *J. Pesticide Sci.*, **30**, 368-377 (2005).
- 5) Hirahara, Y., Kimura, M., Inoue, T., Uchikawa, S., Otani, S., Hirose, H., Suzuki, S., Uchida, Y. Screening method for the determination of 199 pesticides in agricultural products by gas chromatography/ion trap mass spectrometry (GC/MS/MS). *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **47**, 213-221 (2006).
- 6) Matsumoto, N., Yoshikawa, M., Eda, K., Kobayashi, A., Yokoshima, M., Murakami, M., Kanekita, H. Simple pre-processing method for multi-determination of 235 pesticide residues in cooked ingredients of foods by GC/MS and LC/MS/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **49**, 211-222 (2008).
- 7) Takatori, S., Okihashi, M., Okamoto, Y., Kitagawa, Y., Kakimoto, S., Murata, H., Sumimoto, T., Tanaka, Y. A rapid and easy multiresidue method for the determination of pesticide residues in vegetables, fruits, and cereals using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J. AOAC Int.*, **91**, 871-883 (2008).
- 8) Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., Schenck, F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC Int.*, **86**, 412-431 (2003).
- 9) Sannino, A., Mambriani, P., Bandini, M., Bolzoni, L. Multiresidue method for determination of organophosphorus insecticide residues in fatty processed foods by gel permeation chromatography. *J. AOAC Int.*, **78**, 1502-1512 (1995).
- 10) Sannino, A., Mambriani, P., Bandini, M., Bolzoni, L. Multiresidue method for determination of organochlorine insecticides and polychlorinated biphenyl congeners in fatty processed foods. *J. AOAC Int.*, **79**, 1434-1446 (1996).
- 11) Young, S., Clower, M., Jr., Roach, J. A. Method for determination of organohalogen pesticide residues in vegetable oil refinery by-products. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **67**, 95-106 (1984).
- 12) Engebretson, J., Hall, G., Hengel, M., Shibamoto, T. Analysis of pendimethalin residues in fruit, nuts, vegetables, grass, and mint by gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 2198-2206 (2001).
- 13) Nakamura, Y., Tonogai, Y., Tsumura, Y., Ito, Y. Determination of pyrethroid residues in vegetables, fruits, grains, beans, and green tea leaves: applications to pyrethroid residue monitoring studies. *J. AOAC Int.*, **76**, 1348-1361 (1993).
- 14) Amvrazi, E. G., Albanis, T. A. Multiresidue method for determination of 35 pesticides in virgin olive oil by using liquid-liquid extraction techniques coupled with solid-phase extraction clean up and gas chromatography with nitrogen phosphorus detection and electron capture detection. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 9642-9651 (2006).
- 15) Garrido Frenich, A., Fernandez Moreno, J. L., Martinez Vidal, J. L., Arrebola Liebanas, F. J. Application of gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry for the multiresidue analysis of pesticides in olive oil. *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 8346-8352 (2007).

報 文

GC/MS を用いた加工食品中の残留農薬一斉分析法の検討

(平成 20 年 12 月 25 日受理)

北川陽子* 起橋雅浩 高取 聡 岡本 葉
福井直樹 村田 弘 住本建夫 尾花裕孝Multiresidue Method for Determination of Pesticide Residues
in Processed Foods by GC/MSYoko KITAGAWA*, Masahiro OKIHASHI, Satoshi TAKATORI, You OKAMOTO,
Naoki FUKUI, Hiroshi MURATA, Tatsuo SUMIMOTO
and Hirotaka OBANAOsaka Prefectural Institute of Public Health: 1-3-69 Nakamichi,
Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan; *Corresponding author

A rapid and simple multiresidue method has been established for determination of pesticide residues in processed foods by GC/MS. The pesticides were extracted with ethyl acetate in the presence of anhydrous $MgSO_4$ in a disposable tube, using a homogenizer. The extract was concentrated and reconstituted in hexane, followed by acetonitrile-hexane partition to remove lipids. The acetonitrile layer was cleaned up with a double-layered SPE cartridge column (graphite carbon black/PSA silica gel). After removal of the solvent, the residue was dissolved in acetone. The test solution was subjected to GC/MS in the EI mode. Recovery tests of 222 pesticides from five kinds of processed foods (dumpling, curry, French fries, fried chicken, fried fish) were performed at two different fortification levels of 0.02 and 0.1 $\mu g/g$, and 100 pesticides showed acceptable recovery (70–120%) with low relative standard deviation ($\leq 20\%$) at both concentrations. A survey of pesticide residues in 75 commercial processed foods was carried out. Chlorpropham was detected at 0.04 ppm in a sample of French fries.

(Received December 25, 2008)

Key words: 加工食品 processed food; 残留農薬 pesticide residue; 一斉分析法 multiresidue method; ガスクロマトグラフィー/質量分析法 GC/MS

緒 言

平成 18 年 5 月に施行された「食品衛生法の一部を改正する法律」により、残留農薬の規制に関してポジティブリスト制度が導入された。この制度により、個別の基準値が設定された場合を除き、すべての食品が原則一律基準の対象となった。加工食品については、綿実油など一部の食品について個別に基準値が設定されているが、ほとんどの加工食品に基準値は設定されていない。これらの加工食品については、一律基準の規制対象となるのが原則であるが、農薬が検出された場合、原材料にさかのぼって食品規格あるいは一律基準に適合しているかが問題となる。そのため、これまで検疫所および地方自治体の衛生研究所などで残留農薬の検査対象となっていたのは原材料である農産物^{1)~5)}であり、加工食品についてはほとんど検査されて

いなかった。しかしながら、平成 19 年 12 月から平成 20 年 1 月に中国製冷凍餃子による有機リン系農薬中毒事例が相次いで発生し、この事例を発端として消費者の加工食品に対する不安が増大した。このような状況から、従来検査が行われている原材料の農産物だけでなく、加工食品についても残留農薬の分析が必要とされるようになった。

加工食品を対象とした残留農薬一斉分析法としては、これまでにオリーブオイル^{6),7)}などの報告があり、対象農薬数は 30~50 程度であった。多種類の農薬を対象とした報告では、松本ら⁸⁾が、加工食品原材料を対象として 235 農薬、小林ら⁹⁾がベビーフードを対象として 196 農薬を分析している。これらの報告で対象とした試料は、いずれの場合も野菜や果実、米などの農産物が主体であり、加工度もゆでるなどの低いものが多かった。中毒事例の原因食材であった餃子などの加工食品は、さまざまな食材の混合物であり、さらに調味料、香辛料、香料、糖分および脂質などを複合的に含んでいる点で農産物とは大きく異なって

* 連絡先

大阪府立公衆衛生研究所: 〒537-0025 大阪市東成区中道
1-3-69

Table 1. Target Ion and Recovery in Pesticides Analysis by GC/MS

Pesticide	Group ^a	Target ion (m/z)	Dumpling			Curry			French fries			Fried chicken			Fried fish			Frequency ^b			
			Mean	RSD	0.1 µg/g	Mean	RSD	0.1 µg/g	Mean	RSD	0.1 µg/g	Mean	RSD	0.1 µg/g	Mean	RSD	0.1 µg/g				
Acephate	A	136	95	8	83	12	89	7	76	14	14	8	76	6	80	7	41	11	50	23	3
Acetochlor	A	146	92	12	85	5	79	8	82	10	10	2	90	6	89	4	79	9	88	9	5
Acrinathrin	B	181	95	5	66	3	88	1	72	3	3	1	90	5	84	1	113	5	91	14	4
Alachlor	B	160	90	5	93	3	81	2	81	1	1	83	102	6	97	1	98	5	98	8	5
Allidochlor	A	138	100	5	75	5	54	13	54	17	17	41	52	11	61	15	66	1	73	6	1
Ametryn	A	227	86	8	78	4	75	5	79	8	8	77	73	3	86	5	85	8	87	10	5
Anilofos	B	226	95	4	89	4	83	4	84	1	1	81	108	5	100	2	99	7	100	9	5
Atrazine	A	200	89	6	80	3	73	8	79	9	9	72	108	5	85	5	83	5	87	10	5
Azinphos-methyl	B	160	101	2	86	4	88	5	82	1	1	89	106	7	95	2	98	6	97	8	5
Azoxystrobin	B	344	94	6	89	3	75	3	79	3	3	75	94	5	89	2	87	5	86	2	5
Benalaxyl	A	148	96	5	89	4	69	9	82	8	8	66	62	12	87	6	94	5	87	9	2
Bendiocarb	A	151	87	13	78	4	61	13	73	10	10	74	76	4	86	4	71	9	83	17	4
Benfluralin	B	292	88	2	82	3	86	3	72	2	2	100	4	4	97	2	114	4	95	7	5
Benfuresate	B	163	87	3	89	4	79	4	80	2	2	75	103	7	98	3	94	4	96	8	5
Benoxacor	B	259	90	2	88	5	83	5	77	3	3	98	105	5	97	3	99	5	99	11	5
α-BHC	A	181	97	30	91	5	69	26	75	10	10	68	125	33	98	11	101	6	93	9	1
β-BHC	A	181	108	6	85	4	54	24	76	10	10	77	83	10	88	6	80	9	89	11	4
δ-BHC	A	219	167	63	128	14	82	6	84	10	10	86	205	8	108	9	84	10	90	10	3
γ-BHC	A	181	82	22	78	3	72	7	81	11	11	77	72	6	85	6	85	7	86	7	4
Bifenthrin	A	181	83	10	81	3	69	7	78	8	8	73	65	7	85	5	79	8	83	9	3
Bromacil	B	207	86	6	81	6	77	3	82	4	4	70	101	7	86	0	92	6	88	13	5
Bromobutide	B	119	85	22	96	5	57	32	75	2	2	82	118	10	97	1	98	6	97	10	3
Bromophos	B	331	NC ^c	4	70	10	60	3	58	4	4	63	66	18	80	4	92	5	98	11	1
Rupirimate	A	273	82	11	80	0	70	15	82	8	8	76	77	5	87	6	81	8	89	11	5
Butachlor	A	176	93	16	80	5	68	10	83	14	14	83	74	5	87	5	84	5	90	11	4
Butafenacil	A	331	85	9	80	1	76	2	88	8	8	86	78	5	88	4	85	2	84	4	5
Butamifos	B	286	102	7	84	3	90	4	78	2	2	97	121	8	100	2	114	3	101	11	4
Cadusafos	B	159	NC	3	76	3	NC	3	66	7	7	87	NC	14	159	14	99	8	97	8	2
Cafenstrole	B	100	96	3	90	4	93	5	84	1	1	84	NC	107	107	1	84	12	89	6	4
Carbaryl	A	144	77	8	74	4	63	29	73	9	9	83	60	2	84	8	66	15	83	19	2
Carbofuran	B	164	91	5	86	2	73	5	79	2	2	78	103	9	91	1	92	8	86	24	4
Cartentraxone-ethyl	B	312	108	5	91	3	90	3	83	2	2	91	135	16	106	2	102	7	98	9	4
Chlorfenvinphos-E	A	267	98	5	83	5	71	10	85	9	9	79	78	11	90	5	86	11	89	12	5
Chlorfenvinphos-Z	A	267	98	12	82	3	65	13	84	8	8	80	78	9	88	2	87	12	89	11	4
Chlorobenzilate	A	251	88	8	86	2	66	12	81	9	9	78	74	3	89	5	83	6	88	9	4
Chlorpropham	A	127	113	4	93	3	73	12	79	11	11	75	144	4	104	4	96	2	89	7	4
Chlorpyrifos	A	314	93	7	84	7	63	8	82	9	9	69	85	12	87	5	81	9	90	11	3
Chlorpyrifos-methyl	A	286	74	4	78	8	59	20	83	9	9	57	84	2	89	6	83	7	88	10	3
Chlorthal-dimethyl	B	301	NC	6	70	6	62	7	60	6	6	66	54	11	88	1	92	5	97	8	1
Clodinafop-propargyl	A	349	101	8	77	2	84	8	79	9	9	99	97	6	87	5	95	7	84	9	5
Clomazone	B	125	NC	184	14	80	2	79	1	1	33	42	NC	167	167	1	99	5	94	6	2
Cloomeprop	A	120	100	10	89	3	68	10	86	9	9	80	77	3	94	5	83	5	86	6	4
Cloquintocet-methylhexyl	B	192	122	6	95	5	116	3	91	2	2	100	88	33	105	2	104	3	101	5	2
Cyanazine	A	225	93	4	75	5	62	16	76	9	9	68	88	3	83	7	83	16	81	10	3
Cyanofenphos	A	157	103	8	89	4	63	14	80	13	13	86	63	5	86	5	111	5	93	9	3
Cyanophos	A	109	117	5	103	7	72	7	80	8	8	73	125	7	102	4	84	6	87	10	4

Table 1. continued

Pesticide	Group ^a	Target ion (m/z)	Dumpling			Curry			French fries			Fried chicken			Fried fish			Frequency ^b			
			Mean	0.02 µg/g	0.1 µg/g	Mean	0.02 µg/g	0.1 µg/g	Mean	0.02 µg/g	0.1 µg/g	Mean	0.02 µg/g	0.1 µg/g	Mean	0.02 µg/g	0.1 µg/g				
Cyflufenamid	B	412	94	1	74	3	79	1	82	4	88	2	106	6	99	2	90	4	97	7	5
Cyhalofop-butyl	B	256	95	3	82	5	82	3	82	5	88	2	103	3	104	3	96	6	101	9	5
Cyhalofurin	A	181	122	9	109	32	89	9	96	5	101	3	109	8	103	1	102	3	88	8	3
Cyproconazole	B	222	80	12	66	3	72	3	68	13	81	2	87	6	84	1	88	19	91	14	3
Cyprodinil	A	224	86	9	82	9	79	10	77	5	93	2	75	3	88	5	86	7	90	12	5
p,p'-DDD	A	235	87	6	69	6	82	9	78	5	100	2	82	5	88	5	87	8	89	8	4
p,p'-DDE	A	246	72	8	60	11	70	9	67	2	84	3	69	3	77	5	73	8	75	10	2
o,p'-DDT	A	235	86	8	71	1	64	27	76	1	76	4	56	5	75	4	78	8	77	12	3
p,p'-DDT	A	235	87	8	75	2	73	10	82	3	78	4	57	6	83	4	83	8	81	11	3
Diazinon	A	179	88	25	88	3	79	11	76	7	90	2	82	8	90	5	91	4	88	9	4
Dichlofenthion	B	279	86	4	87	3	78	1	78	3	84	3	99	6	97	2	93	4	97	11	5
Dichlorvos	B	109	75	6	68	10	36	23	66	7	66	7	75	8	80	2	79	8	82	5	2
Diclobutrazole	A	270	79	9	78	1	9	8	70	8	86	1	67	9	81	5	81	6	83	8	4
Diclofop-methyl	A	253	91	10	88	1	79	8	81	9	95	2	77	12	80	8	88	11	89	11	4
Diflufenicarb	A	225	94	14	82	4	73	21	75	4	94	3	85	12	94	6	87	13	92	14	4
Diflufenican	B	266	88	3	88	4	75	3	80	0	86	3	97	8	98	2	99	5	101	11	5
Dimepiperate	A	119	102	11	84	4	45	40	54	13	58	6	83	9	92	7	100	18	90	15	3
Dimethamethrin	A	212	87	8	81	3	73	9	77	6	93	2	73	3	87	4	85	7	89	11	5
Dimethenamid	B	154	116	0	97	5	80	1	75	7	85	2	75	6	91	3	97	8	97	8	4
Dimethoate	B	87	104	2	121	4	86	13	95	1	8	9	100	13	100	0	101	19	101	11	4
Dimethylvinphos	A	295	91	16	85	4	83	7	77	5	95	2	75	6	91	3	81	7	87	11	4
Diofenolan	B	186	91	6	91	3	80	3	85	27	88	4	96	15	99	4	113	17	107	4	4
Dioxabenzofos	B	216	86	5	86	3	94	8	76	4	81	3	98	5	96	1	90	4	95	5	5
Diphenamid	A	167	87	10	82	3	75	9	77	8	81	3	67	5	82	7	76	8	81	12	3
Diphenyl	B	154	87	1	69	12	55	15	28	32	40	49	118	6	86	3	88	10	83	8	2
Diphenylamine	B	169	79	0	92	4	80	7	78	2	79	7	97	9	100	2	105	3	97	5	5
Dithiopyr	B	354	87	3	90	3	78	5	81	1	82	2	100	7	100	2	98	4	97	10	5
Edifenphos	B	173	91	3	86	6	81	7	77	7	85	2	87	19	90	4	93	5	94	12	5
EPN	A	157	120	6	89	2	82	8	74	6	104	11	97	0	74	12	85	5	122	36	8
Esprocarb	B	222	83	4	84	2	82	4	82	1	74	3	92	9	94	2	91	7	95	12	5
Ethalfuralin	B	276	84	2	83	3	80	3	73	3	92	4	105	3	98	0	114	4	100	7	5
Ethion	A	231	92	7	85	3	72	6	81	9	96	2	87	7	91	4	93	9	90	10	5
Ethofumesate	A	207	89	8	83	5	75	15	79	6	86	4	75	5	87	5	78	8	90	10	4
Ethoprophos	A	158	78	11	81	5	76	14	77	8	75	5	71	1	86	4	78	7	84	8	5
Etofenprox	B	179	99	1	91	4	83	14	80	1	NC	3	119	3	102	2	95	13	96	4	4
Etofenprox	B	163	90	3	88	4	79	3	82	1	76	2	100	3	99	2	85	10	94	3	5
Etoxadole	A	359	86	3	88	4	70	15	82	11	84	1	109	6	100	5	88	8	87	8	5
Etrinfos	A	292	89	8	83	3	72	6	81	9	75	6	76	2	89	5	82	6	89	9	5
Fenarimol	B	251	93	8	87	4	79	4	80	2	71	6	151	20	85	4	NC	—	93	3	3
Fenamiphos	A	303	72	10	75	2	71	9	79	9	76	7	67	3	80	7	75	6	79	11	4
Fenbuconazole	A	198	69	10	73	3	75	8	79	7	83	3	74	3	78	5	72	5	75	3	4
Fenchlorphos	A	285	86	6	80	10	61	19	81	9	56	16	123	6	82	4	81	7	87	10	3
Fenitrothion	B	277	98	7	87	3	80	6	75	1	98	2	83	4	98	1	106	5	99	11	4
Fenobucarb	A	121	87	7	80	4	84	26	78	10	74	6	82	5	85	6	86	7	82	7	4
Fenothiocarb	A	160	83	6	82	3	70	12	81	9	68	6	63	12	86	6	88	7	90	13	3
Fenoxanil	A	189	90	10	82	2	71	11	84	10	81	6	83	15	90	4	86	17	88	11	5

Table 1. continued

Pesticide	Group ^a	Target ion (m/z)	Dumpling			Curry			French fries			Fried chicken			Fried fish			Frequency ^b					
			0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g						
			Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean		RSD				
Fenoxycarb	A	186	96	8	83	4	67	7	78	8	33	29	70	7	51	19	65	8	74	6	69	11	1
Fenpropathrin	A	265	127	11	93	2	105	19	89	12	104	18	106	4	101	9	100	7	83	25	93	10	3
Fenpropimorph	A	128	56	15	50	35	34	10	41	10	50	40	60	37	32	7	42	1	40	8	47	11	0
Fensulfotioin	A	293	84	7	73	2	68	8	78	8	68	6	80	3	78	8	80	7	75	7	72	8	3
Fenthion	B	278	88	5	88	3	76	4	80	2	79	3	84	4	100	7	99	1	93	5	99	13	5
Fipronil	A	367	103	2	91	9	53	19	106	10	76	7	122	4	92	4	94	1	85	9	88	11	3
Fiamprop-methyl	A	335	84	8	81	5	71	16	82	8	72	11	94	3	80	10	86	7	81	16	88	12	5
Fuacrypyrim	B	145	95	4	93	4	83	3	83	1	82	3	88	3	105	10	101	2	98	6	100	8	5
Flucythrimate	A	199	87	7	82	2	87	3	81	9	90	8	96	3	87	7	93	5	NC	—	NC	—	4
Fludioxonil	B	248	78	3	82	4	74	2	78	0	74	5	81	4	94	8	87	3	88	7	94	9	5
Flumiclorac-pentyl	B	423	71	11	72	4	71	4	77	2	80	2	84	3	83	9	87	3	83	5	88	4	5
Flumioxazin	B	354	83	5	65	3	88	2	71	3	96	3	76	2	107	2	79	1	95	3	84	10	4
Fluquinconazole	A	340	77	7	78	1	73	7	84	8	75	6	91	2	75	3	85	7	73	8	84	6	5
Flusilazole	B	233	86	4	86	4	79	3	80	1	78	4	83	3	100	7	93	3	95	5	96	10	5
Flutolanil	A	173	90	8	82	3	71	8	82	7	75	7	93	3	75	2	89	6	85	7	88	10	5
Flutriafol	B	123	94	10	87	3	64	15	74	1	41	7	68	2	98	20	83	5	79	13	83	13	4
Fluvalinate	A	250	87	5	79	3	91	3	78	8	102	6	94	2	91	3	87	5	86	4	78	4	5
Fthalide	B	243	42	16	77	5	72	8	69	8	57	17	68	22	80	9	86	3	80	7	99	10	2
Furametpyr	B	157	84	3	85	4	78	2	80	1	67	6	79	3	95	6	88	3	94	12	89	8	4
Furathiocarb	A	163	94	9	83	4	75	9	85	10	82	7	96	2	70	5	81	6	85	6	87	8	5
Furilazole	A	220	86	4	72	4	57	18	80	8	78	8	92	4	83	7	89	2	86	5	90	8	4
Halfenprox	B	263	92	3	72	3	92	3	68	0	99	4	77	1	105	3	88	2	99	8	88	3	4
Hexaconazole	B	214	76	3	81	4	74	5	77	2	71	3	77	2	94	11	87	7	91	8	91	12	5
Hexazinone	B	171	90	5	83	5	82	4	80	1	68	4	68	4	82	4	77	4	72	7	77	8	4
Iprobenfos	A	204	88	10	80	3	74	12	82	8	82	5	94	4	81	8	88	5	83	10	87	10	5
Iprovalicarb	A	134	109	24	92	4	68	17	80	7	77	11	92	1	78	6	85	6	86	8	85	11	3
Isazophos	A	161	107	12	84	3	78	2	82	10	76	8	97	1	96	6	93	5	96	9	88	9	5
Isofenphos	B	213	98	12	92	1	78	6	79	3	86	5	86	2	99	15	102	6	102	7	97	6	5
Isoprocarb	A	121	84	9	80	4	79	10	77	7	72	6	86	3	77	4	85	7	71	3	78	6	5
Isoprothiolane	A	162	91	5	81	4	69	11	84	11	83	2	94	4	82	2	92	5	85	14	90	12	4
Kresoxim-methyl	B	116	87	3	90	3	83	8	87	0	83	3	87	3	109	7	100	2	94	4	101	10	5
Malathion	A	173	99	9	84	3	55	11	79	10	86	4	93	2	83	2	90	6	89	11	90	11	4
Mefenacet	B	192	88	2	86	4	81	1	81	1	75	6	84	3	102	15	94	2	91	4	96	9	5
Mepronil	A	119	100	9	87	4	72	9	83	9	76	5	94	4	76	4	89	5	85	8	79	10	5
Metaxyl	A	206	82	10	79	3	70	24	78	6	67	14	86	2	67	4	81	7	72	16	76	11	2
Metamidophos	A	141	46	19	63	4	60	16	69	8	72	2	72	6	86	10	65	8	57	8	63	22	1
Methacrifos	A	240	84	5	77	1	71	4	73	9	61	5	78	2	79	8	82	11	73	4	81	6	4
Methidathion	A	145	108	4	83	3	72	7	81	8	81	1	93	2	59	6	90	6	NC	—	NC	—	4
Methiocarb	A	168	91	7	78	2	77	30	78	9	71	3	86	4	71	2	89	5	85	12	91	17	3
Metaminostrobin-E	A	191	87	7	77	4	66	7	76	10	70	6	87	3	75	6	83	5	86	11	81	11	4
Metaminostrobin-Z	A	191	80	11	74	4	77	14	79	11	82	4	83	1	68	6	80	6	79	18	79	12	4
Metolachlor	B	162	91	4	90	3	80	3	82	1	79	2	87	4	102	7	98	2	105	5	101	12	5
Metolcarb	B	108	85	2	87	4	70	4	74	2	76	2	79	4	94	6	92	2	86	8	88	9	5
Metribuzin	B	198	94	4	88	3	80	7	76	1	84	3	76	5	111	11	94	2	101	4	95	8	5
Mevinphos	B	127	102	1	91	3	77	5	75	4	81	6	80	3	112	8	97	2	90	7	89	6	5
Molinate	B	126	78	1	77	7	67	3	58	4	66	13	69	3	75	19	79	2	78	4	81	2	3

Table 1. continued

Pesticide	Group ^a	Target ion (m/z)	Dumpling			Curry			French fries			Fried chicken			Fried fish			Frequency ^b				
			0.02 µg/g	0.1 µg/g	Mean RSD	0.02 µg/g	0.1 µg/g	Mean RSD	0.02 µg/g	0.1 µg/g	Mean RSD	0.02 µg/g	0.1 µg/g	Mean RSD	0.02 µg/g	0.1 µg/g	Mean RSD					
			Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean		RSD			
Monocrotophos	B	192	112	5	93	5	93	3	99	6	87	3	109	5	93	3	93	5	85	9	4	
Myclobutanil	B	179	94	3	87	2	85	9	92	5	81	4	99	16	90	4	86	9	91	4	4	
Napropamide	A	271	88	2	82	3	75	8	76	6	90	3	75	5	85	5	138	18	97	16	4	
Nitrothal-isopropyl	A	236	102	4	82	2	73	7	77	9	92	3	90	4	86	4	96	9	90	12	5	
Norfurazon	B	303	80	9	83	5	72	7	74	1	6	74	4	87	11	82	4	76	8	85	12	4
Omethoate	B	156	82	6	70	6	66	33	98	12	89	7	61	4	84	8	75	16	79	14	2	
Oxadiazon	B	258	87	13	89	4	78	3	88	3	83	7	98	11	105	0	103	5	103	11	5	
Oxadixyl	A	163	79	9	77	5	47	90	81	15	78	5	63	29	76	8	69	17	69	10	2	
Oxyfluorfen	B	252	113	5	86	2	92	2	76	2	102	5	83	4	132	11	99	0	118	5	4	
Paclobutrazol	B	236	83	3	84	6	70	7	75	1	62	9	74	4	76	24	82	4	104	10	2	
Parathion	B	291	99	3	82	2	94	4	75	2	83	3	116	3	98	3	115	5	99	12	5	
Parathion-methyl	B	263	92	2	84	3	87	5	75	2	82	3	115	6	100	3	111	9	100	11	5	
Perconazole	B	248	90	3	87	3	78	4	79	2	81	4	102	9	92	2	91	4	96	9	5	
Pencycuron	B	180	137	34	112	13	54	31	79	3	NC	7	116	9	88	2	93	7	85	5	2	
Pendimethalin	B	252	105	2	86	7	92	4	75	2	92	16	82	2	159	5	101	8	97	12	4	
Phenothrin	A	183	83	4	76	12	67	7	83	9	70	7	65	8	72	10	80	13	83	9	4	
Phenthoate	B	274	90	2	88	2	83	3	80	1	84	2	95	11	96	2	103	6	102	12	5	
2-Phenylphenol	B	170	84	2	87	2	76	3	77	1	75	6	81	4	121	10	95	3	94	5	4	
Phorate	B	75	85	6	87	1	76	5	73	2	80	6	93	9	100	1	99	5	96	9	5	
Phosalone	B	182	90	16	85	6	51	14	63	1	77	5	93	9	103	1	99	5	95	4	4	
Phosmet	A	160	67	4	61	4	65	7	71	8	74	9	78	1	55	5	67	19	75	4	2	
Phosphamidon	A	264	90	8	77	3	73	23	82	10	84	4	92	5	67	19	77	21	77	12	2	
Picolinafen	A	238	86	11	88	1	79	7	86	10	91	9	100	8	95	2	83	7	88	7	5	
Piperophos	B	320	103	3	91	4	92	3	85	0	84	5	90	3	110	7	103	95	97	7	5	
Pirimiphos-methyl	B	290	86	2	88	3	77	5	80	2	80	3	101	7	98	2	95	5	95	8	5	
Pretilachlor	B	238	111	3	93	6	85	4	82	1	82	11	113	12	99	4	89	8	100	12	5	
Primicarb	A	166	85	9	78	5	68	8	78	5	76	9	66	3	84	6	78	8	82	10	3	
Primiphos-ethyl	A	333	88	10	84	3	68	7	78	10	79	5	94	3	89	4	85	6	91	13	4	
Procymidone	A	283	105	10	94	3	61	6	85	12	106	9	77	6	93	5	134	37	97	11	3	
Profenofos	B	339	41	24	73	5	60	12	62	10	46	19	82	24	94	2	98	7	96	11	2	
Promecarb	A	135	103	15	87	5	64	14	82	9	74	7	78	3	88	5	79	6	85	9	4	
Prometryn	A	241	86	10	80	4	72	6	80	9	81	6	93	2	72	5	84	11	89	11	5	
Propachlor	A	120	87	7	80	4	74	6	75	9	74	6	86	1	78	3	80	6	80	8	5	
Propanil	B	161	89	2	87	3	79	2	76	2	74	0	101	4	91	7	94	10	94	10	5	
Propaphos	A	304	88	8	81	2	70	10	81	9	77	0	71	7	88	5	79	14	89	12	5	
Propham	A	179	83	6	81	4	69	7	74	9	70	2	76	7	84	7	76	1	82	5	3	
Propiconazole	A	259	87	7	80	1	79	7	83	8	82	5	86	4	87	4	82	4	85	8	5	
Propoxur	A	110	85	8	78	4	65	11	76	9	71	4	72	3	84	6	70	7	78	10	4	
Propyzamide	B	173	23	63	77	4	85	4	78	2	86	8	NC	149	9	102	6	100	10	3	3	
Prothiofos	B	309	82	5	82	4	79	4	74	3	74	10	97	6	104	4	89	4	92	12	5	
Pyraclafos	B	360	109	2	93	4	111	3	91	2	110	5	114	9	93	0	89	6	93	4	5	
Pyraflufen-ethyl	B	412	42	22	78	15	31	25	60	7	48	17	92	7	91	1	92	5	99	11	4	
Pyrazophos	B	221	93	8	90	4	90	2	83	1	82	3	87	8	100	2	114	5	102	7	5	
Pyributicarb	A	165	101	6	84	3	75	8	81	10	81	3	79	6	88	5	330	48	62	80	4	
Pyridaben	B	147	85	9	85	4	73	1	75	0	73	8	78	1	97	2	79	1	95	7	5	
Pyridaphenthion	B	340	87	5	88	5	80	2	80	1	76	4	100	2	90	2	89	12	90	2	5	

Table 1. continued

Pesticide	Group ^a	Target ion (m/z)	Dumpling			Curry			French fries			Fried chicken			Fried fish			Frequency ^b			
			0.02 µg/g			0.1 µg/g			0.02 µg/g			0.1 µg/g			0.02 µg/g				0.1 µg/g		
			Mean	RSD	n	Mean	RSD	n	Mean	RSD	n	Mean	RSD	n	Mean	RSD	n		Mean	RSD	n
Pyrimethanil	B	198	84	2	88	3	80	3	80	1	80	4	100	6	96	2	95	5	97	11	5
Pyrimidifen	A	184	73	10	79	1	70	6	84	9	81	2	76	3	88	4	73	2	79	4	5
Pyriminobac-methyl-E	B	302	92	5	90	4	83	4	82	1	77	5	99	9	97	2	89	7	98	12	5
Pyriminobac-methyl-Z	B	302	89	4	88	4	80	2	82	1	75	3	99	9	95	3	88	8	96	14	5
Pyriproxyfen	A	136	87	8	85	4	69	10	82	10	77	4	79	5	91	4	81	5	83	7	4
Quinoxifen	A	237	84	9	82	0	63	10	78	9	71	2	69	8	83	4	79	8	83	9	3
Quinalphos	A	146	91	9	84	4	72	8	81	9	79	6	71	3	88	4	85	8	89	12	5
Silaflofen	A	179	75	12	80	3	74	13	81	8	75	5	69	8	87	3	85	3	78	6	4
Simazine	B	201	87	4	87	4	77	10	79	1	77	4	99	9	92	2	90	6	92	9	5
Simeconazole	A	121	78	10	74	4	73	12	75	10	72	3	64	9	82	5	70	14	82	10	4
Simetryn	B	213	93	2	88	4	73	10	80	2	74	3	102	7	92	3	98	6	97	12	5
Sulprofos	B	322	97	1	89	4	79	3	78	1	82	4	106	10	100	2	94	5	98	11	5
Tebuconazole	B	250	90	5	83	3	80	4	77	1	72	9	99	5	88	3	90	5	93	7	5
Tebuconazole	A	318	86	13	84	3	70	9	83	10	74	8	80	5	90	4	76	7	87	7	5
Tecazene	A	203	84	12	77	3	29	39	70	12	53	15	79	12	76	8	78	7	76	6	3
Tefluthrin	A	177	84	7	83	2	55	19	75	12	73	2	86	3	90	5	81	4	85	9	4
Terbacil	A	160	107	3	90	6	71	17	82	11	91	10	102	16	66	4	81	3	83	11	4
Terbufos	B	231	85	6	85	3	76	5	75	2	77	7	80	4	97	8	97	1	107	5	5
Terbutryn	B	226	90	4	89	4	80	2	82	1	82	4	110	9	97	2	95	6	98	11	4
Tetrachlorvinphos	A	329	100	3	86	12	65	25	111	11	90	17	125	2	85	4	81	10	87	12	3
Tetraconazole	B	336	88	4	85	5	76	6	79	0	81	4	103	11	92	2	99	5	94	8	5
Tetraconazole	B	229	73	7	85	5	58	42	72	7	74	16	91	1	95	8	99	4	95	3	4
Thenylchlor	B	127	119	2	98	5	116	4	81	5	112	4	71	3	52	10	56	2	111	11	5
Thiabendazole	B	201	88	14	80	5	116	4	72	5	75	14	87	5	104	13	98	4	92	6	4
Thifluzamide	B	194	46	48	83	4	76	1	79	2	75	4	84	3	98	11	95	7	100	12	4
Thiobencarb	B	100	92	10	94	6	77	4	79	2	76	3	84	4	96	9	97	2	88	4	4
Thiazopyr	B	327	95	5	89	3	80	0	81	1	79	5	85	2	105	6	100	3	104	3	5
Tolclofos-methyl	B	265	86	2	88	3	80	5	80	1	81	5	84	3	101	6	99	1	93	5	5
Triadimefon	B	208	87	8	88	4	87	5	81	2	81	6	84	3	102	13	95	2	94	5	5
Triadimenol	B	168	102	7	84	7	78	9	78	2	72	2	76	5	109	13	88	4	99	10	5
Tri-allate	B	268	74	1	77	2	71	4	69	1	69	2	73	3	84	8	82	3	83	6	3
Triazophos	B	161	97	2	89	4	88	2	84	2	85	1	87	3	103	6	98	3	101	7	5
Triphos	B	169	107	15	79	4	81	8	80	4	58	8	73	3	106	22	88	4	89	4	3
Trifluralin	B	306	86	2	84	3	85	4	73	2	99	2	85	4	110	4	98	1	114	2	5
Uniconazole	B	234	77	6	82	5	96	3	91	1	74	5	79	3	93	9	86	4	92	5	5
Vinclozolin	B	212	85	12	87	4	77	6	79	3	77	15	84	1	101	1	96	1	101	7	5
XMC	B	122	82	7	85	2	81	5	77	3	79	3	83	4	117	27	100	3	88	3	5
Xylylcarb	B	122	85	8	88	4	81	4	78	6	77	5	81	4	105	10	95	1	86	5	12

^a Group --- Standard solution group

^b Frequency --- The number of processed foods with acceptable recovery (70-120%) and RSD (0-20%) at both concentrations

^c NC --- Not calculated because of matrix interference

^d --- No data

Table 2. Pesticides not satisfying the lower limit of quantitation in GC/MS

Group A			Group B	
Aldrin	Deltamethrin	Heptachlor epoxide	Bifenoxy	Prochloraz
Bioallethrin	Dicofol	Indoxacarb-MP	Dicloran	Pyrifenoxy-E
Bitertanol	Dieldrin	Iprodione	Endosulfan- α	Pyrifenoxy-Z
Bromopropylate	Difenoconazole	Permethrin	Endosulfan- β	Tralomethrin
Buprofezin	Endrin	Propargite	Isoxathion	Trifloxystrobin
Chlorfenapyr	Fenvalerate	Quintozene	Lactofen	Triflumizole
Cyfluthrin	Fosthiazate		Lenacil	
Cypermethrin	Heptachlor		Metoxychlor	

いる。このような、幅広い加工食品に対応した多種類の農薬の一斉分析法については、ほとんど報告例がないのが現状であった。

これまでに著者らは LC/MS/MS を用いた餃子中の残留農薬一斉分析法について検討を行った¹⁰⁾。この方法では、抽出溶媒として酢酸エチルを用い、さらにアセトニトリル/ヘキサン分配および固相抽出により精製を行った。この前処理方法を用いた添加回収試験では、添加した 99 農薬中 72 農薬が良好 (判定基準: 平均回収率 70~120%, 相対標準偏差 20% 以下) となり、餃子中の残留農薬分析に有用な方法であった。この方法をさらに発展させるためには、適用農薬の拡充が必要であり、LC/MS/MS に加えて GC/MS についても検討を行うことは重要である。

そこで本研究では、GC/MS を用いた加工食品中の残留農薬一斉分析法の確立を目的とし、既報¹⁰⁾による前処理方法が、より多くの農薬および加工食品に適用可能であるかを検討した。添加農薬は 258 農薬とし、添加対象の加工食品は、餃子のほかに、さまざまな食材を含む食品としてレトルトカレーを選択した。その他脂質含量の高い加工食品として揚げ物 3 種類 (フライドポテト (野菜)、鶏唐揚げ (肉類)、白身魚フライ (魚類)) についても検討を行った。合計 5 種類について評価を行った。

さらに、本分析法を用いて市販されている加工食品 (75 検体) について実態調査を行ったので報告する。

実験方法

1. 試料

大阪府内で購入した加工食品 (餃子, レトルトカレー, フライドポテト, 鶏唐揚げ, 白身魚フライ) を用いた。

2. 試薬

標準品: 添加農薬一覧を Table 1 および 2 に示した。各農薬標準品は、和光純薬工業(株)、林純薬工業(株)、関東化学(株)、Dr. Ehrenstorfer 社および Riedel-de Haën 社製 (すべて残留農薬試験用) を用いた。それぞれの農薬標準品をアセトンで 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるように溶解し、農薬標準原液とした。農薬数は、異性体を含め 1 試薬を 1 農薬と数えた。

農薬混合標準溶液: 各農薬標準原液を Table 1 および 2 に示したようにグループ A および B に分けて混合し、5

$\mu\text{g}/\text{mL}$ になるようにアセトンで希釈した。

グラファイトカーボンブラック (GCB)/PSA 積層カラム: SIGMA-ALDRICH 社製 ENVITM-CarbII/PSA (500/500 mg) を用いた。

無水硫酸マグネシウムは、和光純薬工業(株)製特級を用いた。その他の試薬は和光純薬工業(株)製残留農薬試験用を用いた。

3. 装置

高速ホモジナイザー: KINEMATICA 社製ポリトロン PT10

遠心分離機およびローター: (株)日立製作所製 himac SCR20B および R12A

4. GC/MS 分析条件

ガスクロマトグラフ質量分析計: (株)島津製作所製 GC/MS QP2010

カラム: RESTEK 社製 Rtx-5MS (内径 0.25 mm, 長さ 30 m, 膜厚 0.25 μm), カラム温度: 50°C (1 min) \rightarrow 25°C/min \rightarrow 125°C (0 min) \rightarrow 10°C/min \rightarrow 300°C (8.5 min), 注入口温度: 250°C, トランスファーライン温度: 200°C, MS イオン源温度: 200°C, 注入量: 1 μL (スプリットレス), キャリアーガス: He, イオン化法: EI, イオン化電圧: 70 eV, 分析モード: SIM, 各農薬の定量イオンは Table 1 に示した。

5. 試験溶液の調製方法

調製方法は既報に準じた¹⁰⁾。試料を均一化した後、ポリプロピレン製 (pp 製) 50 mL コニカルチューブに 5 g を採取した。これに無水硫酸マグネシウム 3 g および酢酸エチル 20 mL を加え、ホモジナイザーで 1 分間攪拌抽出した。遠心分離 (3,000 rpm, 10 分間) 後、酢酸エチル層 8 mL をナス型フラスコに分取した。これをエバポレーターで濃縮後、窒素気流下で乾固した。残渣をヘキサン 10 mL に溶解させた後、全量を新たな pp 製コニカルチューブに移した。これにヘキサン飽和アセトニトリル 20 mL を加え分配抽出を行った。遠心分離 (3,000 rpm, 10 分間) 後、アセトニトリル層を分取した。この操作をさらに 1 回繰り返す。得られたアセトニトリル層を合わせた。あらかじめアセトニトリル/トルエン (3/1) でコンディショニングした GCB/PSA 積層カラムにアセトニトリル層を負荷し、さらにアセトニトリル/トルエン (3/1) 30 mL で溶出を行った。ナス型フラスコにカラム負荷液および溶出

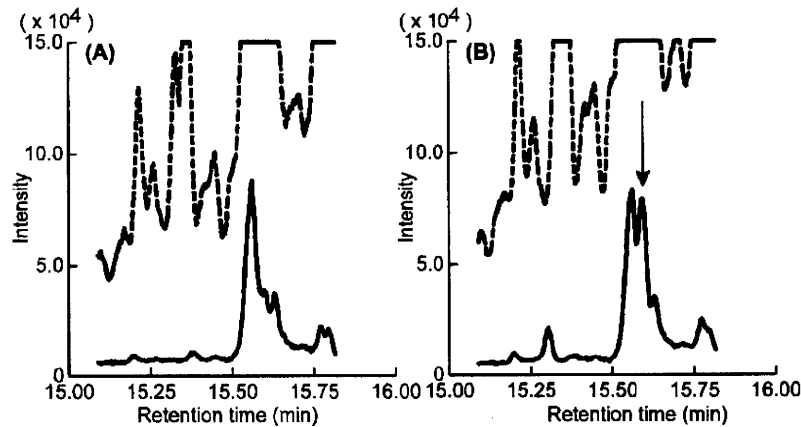


Fig. 1. SIM chromatograms for methidathion [solid line, monitoring ion (m/z 145); broken line, qualifier ion (m/z 85)] of the test solution obtained from the fried fish sample (A) Non-fortified test solution (B), Fortified $0.02 \mu\text{g/g}$ methidathion test solution. The arrow indicates the fortified methidathion peak.

液を回収し、エバポレーターで濃縮後、窒素気流下で乾固した。これをアセトンで2 mLに定容し、試験溶液とした(試料換算; 1.0 g/mL)。

6. 添加回収試験

5種類の加工食品(餃子, レトルトカレー, フライドポテト, 鶏唐揚げ, 白身魚フライ)に農薬混合標準溶液(AおよびB, 合計258農薬)を 0.02 および $0.1 \mu\text{g/g}$ になるようそれぞれ添加し30分間放置した。その後, 本法に従って操作し回収率を求めた($n=3$)。

7. マトリックス添加標準溶液の調製

農薬混合標準溶液(AおよびB)をアセトンで順次希釈し, $0.02, 0.04, 0.10, 0.20, 0.40 \mu\text{g/mL}$ の標準溶液を調製した。調製した各標準溶液と測定対象農薬が検出されていない無添加試料の試験溶液(試料換算; 2.0 g/mL)を等量ずつ混和し, $0.01, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20 \mu\text{g/mL}$ のマトリックス添加標準溶液を調製した(試料換算; 1.0 g/mL)。

8. 試験溶液の定量

調製したマトリックス添加標準溶液をGC/MSに注入し, ピーク面積法により5点検量線を作成した。この検量線を用いて試験溶液の定量を行った。

9. 添加回収試験の結果判定基準

それぞれの試料における各農薬の平均回収率および相対標準偏差を算出した。平均回収率が $70\sim 120\%$ および相対標準偏差 20% 以下であったものを良好な結果と判定した^{3)~5)}。

結果および考察

1. 添加回収試験

マトリックス添加標準溶液の測定時において, 本報で目標とした定量下限値である $0.01 \mu\text{g/g}$ を満たした農薬は258農薬中, 222農薬であった。残りの36農薬は感度不足のため, 測定対象外とした。測定対象外となった農薬一

覧をTable 2に示した。ピレスロイド系農薬やドリノ系農薬等が測定対象外となった。また, マトリックス添加標準溶液は, 添加しない場合と比較して $20\sim 40\%$ 程度感度が増加した。

測定対象とした222農薬について各試料に対する添加回収試験の結果をTable 1に示した。添加濃度 $0.1 \mu\text{g/g}$ において良好な結果を示した農薬数は, 餃子210, レトルトカレー205, フライドポテト205, 鶏唐揚げ213, 白身魚フライ214となり, すべての試料について200以上の農薬が良好な結果を得た。一方, 添加濃度 $0.02 \mu\text{g/g}$ において良好な結果を示した農薬数は, 餃子199, レトルトカレー155, フライドポテト181, 鶏唐揚げ172, 白身魚フライ206となり, 添加濃度 $0.1 \mu\text{g/g}$ と比較して良好な結果を示した農薬数が一様に減少した。この原因としては, $0.02 \mu\text{g/g}$ 添加の試料は, $0.1 \mu\text{g/g}$ 添加と比較して農薬の濃度が低く, 試料由来の妨害成分の影響を受けやすくなったためと考えられた。例としてFig. 1に白身魚フライに $0.02 \mu\text{g/g}$ のメチダチオンを添加した試験溶液のマスプロトグラムを示した。試料由来の妨害成分が, メチダチオンの定量用イオン(m/z ; 145)の保持時間付近に接近し, 正確な定量を行うことが困難であった。さらに確認用イオン(m/z ; 85)は妨害成分の中に埋もれてしまい, 判別不能であった。以上のことから, 低濃度の農薬をGC/MSで定量する場合, 試料の種類と農薬の組合せによっては, 定量性を確保することが困難となる場合があり, 注意が必要であると考えられた。

測定対象農薬それぞれについて, 2濃度ともに良好な結果を得た加工食品数を集計し, まとめたものをFig. 2に示した。すべての加工食品について2濃度ともに良好な結果が得られた農薬数は100農薬であった。反対にすべての加工食品について良好な結果を得ることができなかった農薬は, フェンプロピモルフのみで, 濃度によらずすべての添加回収試験において回収率が $34\sim 60\%$ であった。