

201234004A

厚生労働科学研究費補助金

食品の安全確保推進研究事業

食品中残留農薬等のスクリーニング分析法  
の開発に関する研究

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 国立医薬品食品衛生研究所 食品部 根本 了

平成 25(2013)年 5 月

# 目 次

I. 総括研究報告	
食品中残留農薬等のスクリーニング分析法の開発に関する研究 -----	1
根本 了	
II. 分担研究報告	
1. 新規分析技術を用いた農産物中残留農薬のスクリーニング分析法の開発 -----	13
根本 了	
齊藤 静夏	
2. 畜水産物中残留動物用医薬品及び農薬の包括的スクリーニング分析法の開発 --	35
坂井 隆敏	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	73
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	77

## I. 総括研究報告

# 食品中残留農薬等のスクリーニング分析法 の開発に関する研究

研究代表者 根本 了

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)  
平成 24 年度 総括研究報告書

食品中残留農薬等のスクリーニング分析法の開発に関する研究

研究代表者 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

食品に残留する農薬等に関するポジティブリスト制度の導入に伴い、規制対象となる農薬等は現在 830 品目を超える。食品中の残留農薬等の安全性を確保するためには、このような膨大な数の品目について農産物及び畜水産物中の残留濃度を精確かつ迅速に測定する必要があり、そのためにはより効率的で信頼性の高いスクリーニング分析法の開発が不可欠である。本研究では、食品に残留する農薬等のより効率的な検査の実施に資するスクリーニング分析法を開発するために、次の 2 つの分担研究を実施した。

1. 新規分析技術を用いた農産物中残留農薬のスクリーニング分析法の開発

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ガスクロマトグラフ・タンデム型質量分析計(GC-MS/MS)で測定可能な 101 化合物を対象に超臨界流体抽出(SFE)法の残留農薬一斉分析への適用について検討した。SFE 条件(抽出圧力、抽出温度、抽出時間、モディファイヤーの種類及び量)や SFE 試料の調製方法について最適化し、試料を SFE 後、PSA ミニカラムで精製して GC-MS/MS 測定する簡便なスクリーニング法を確立した。果実・野菜を用いて添加濃度 0.1 及び 0.01 ppm で 5 併行の添加回収試験を行った結果、検討した農薬の大部分は真度(目標値: 70~120%)及び併行精度[目標値:<15%(添加濃度 0.1ppm)、<25%(添加濃度 0.01ppm)]の目標値を満たした。農薬が残留した試料を用いて SFE 法と溶媒抽出法の分析値を比較した結果、一部の農薬を除き、両者でほぼ同等の結果が得られ、SFE 法は残留農薬スクリーニング法として有用であることが示された。

2. 畜水産物中残留動物用医薬品及び農薬の包括的スクリーニング分析法の開発

検査機関におけるより効率的な検査態勢の確立を目的として、畜水産物に基準値が設定されている残留動物用医薬品及び農薬の包括的スクリーニング分析法の開発を試みた。平成 24 年度は、昨年度までに開発した分析法について、種々の畜水産物に対する適用性を評価することを目的として、畜水産物 10 食品(牛の筋肉、鶏の筋肉、牛の肝臓、牛の脂肪、牛乳、鶏卵、ウナギ、サケ、しじみ及びはちみつ)を用いた添加回収試験を実施した。その結果、多くの対象化合物/対象食品の組合せにおいて良好な回収率が得られ、測定時の試料マトリックスの影響を大きく受ける化合物/食品の組合せも少なかったことから、本研究で開発検討した分析法は、種々の畜水産物中の残留動物用医薬品及び農薬の包括的スクリーニング分析法として有用であると考えられた。

## 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)

坂井隆敏(国立医薬品食品衛生研究所  
食品部主任研究官)

## 研究協力者

齊藤静夏(国立医薬品食品衛生研究所  
食品部主任研究官)

### A. 研究目的

食品に残留する農薬等(農薬、動物用医薬品及び飼料添加物)に関するポジティブリスト制度が平成 18 年 5 月 29 日に施行され、現在約 830 品目(農薬約 610 品目、動物用医薬品約 220 品目)の農薬等が規制対象となっている。食品の安全確保のためには、食品中の残留農薬等を精確かつ迅速に測定し評価する必要があるが、このような膨大な数の品目を検査するためには、効率的で信頼性の高いスクリーニング分析法の開発が不可欠である。そのため本研究では、食品に残留する農薬等のより効率的な検査の実施に資するスクリーニング分析法を開発するために、次の 2 つの分担研究を実施した。

#### 1. 新規分析技術を用いた農産物中残留農薬のスクリーニング分析法の開発

昨年度は液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)で測定可能な中～高極性の農薬を対象に超臨界流体抽出(SFE)法の残留農薬分析への適用について検討を行い、試料を SFE 後、クリーンアップなしで LC-MS/MS 測定を行う簡便な分析法を確立した。本年度は、LC-MS/MS では測定が困難な低極性化合物への対応として、GC-MS/MS で測定可能な中～低極性の農薬を対象に SFE 法を用いた果実・野菜中の残留農薬一斉分析法を検討した。確立した

方法で農産物を用いて添加回収試験を行うとともに、農薬が残留した試料を用いて分析値を溶媒抽出法と比較し、SFE 法の残留農薬分析への適用性について検討した。

#### 2. 畜水産物中残留動物用医薬品及び農薬の包括的スクリーニング分析法の開発

ポジティブリスト制度の導入に伴い、畜水産物には動物用医薬品に加え農薬の基準値が設定された。一方、食品中の残留農薬等の通知試験法としては、動物用医薬品を対象に 3 種類、農薬を対象に 5 種類の一斉試験法が通知されている。しかし、現行の通知一斉試験法は、動物用医薬品と農薬とではそれぞれ試験法が異なっているため、畜水産物を検査する場合、動物用医薬品一斉試験法及び農薬一斉試験法を用いて二度の分析を行う必要がある。動物用医薬品及び農薬を同時に分析できる方法が開発されれば、現在それぞれの試験法で行われている検査を一回の検査に短縮できるため、より効率的な食品の検査が可能になると考えられる。そこで、本研究では、検査機関におけるより効率的な検査態勢の確立を目的として、畜水産物に基準値が設定されている動物用医薬品及び農薬を対象として、これらの包括的一斉スクリーニング分析法の開発を試みた。

平成 24 年度は、昨年度までに開発検討した分析法の種々の畜水産物に対する適用性を評価することを目的として、畜水産物 10 食品(牛の筋肉、鶏の筋肉、牛の肝臓、牛の脂肪、牛乳、鶏卵、ウナギ、サケ、しじみ及びはちみつ)を用いた添加回収試験を実施した。

### B. 研究方法

#### 1. 新規分析技術を用いた農産物中残留農薬のスクリーニング分析法の開発

GC-MS/MS の測定条件については、残留農薬分析に適した注入条件を求めるために、*n*-アルカンを指標として、ホットニードル注入法の Pre-injection time 及び注入口温度について最適化した。

今年度の検討では、GC-MS/MS 測定可能な中～低極性農薬を対象としており、昨年度の LC-MS/MS 測定対象農薬とは、SFE 法に適した果実・野菜の試料調製法及び SFE 条件が異なることが考えられた。そのため、今年度の対象農薬について、トマトを用いて脱水に必要な最適な無水硫酸マグネシウム量を求め、果実・野菜の試料調製法を検討した。SFE 条件の検討では、①CO<sub>2</sub> 密度、②抽出温度、③抽出時間、④モディファイヤーとして添加する極性溶媒の種類と量及び⑤ODS トラップカラムからの溶出条件について検討した。また、GC-MS/MS 測定は LC-MS/MS 測定と比較して、夾雑成分の影響を受けやすかったことから、SFE 抽出液のミニカラム精製について検討した。

開発した SFE 法について、トマト及びほうれんそうを用いて、101 化合物を対象に試料中濃度 0.1 及び 0.01 ppm で 5 併行の添加回収試験を行い評価した。また、農薬が残留した試料を用いて、確立した SFE 法及び溶媒抽出法(通知一斉試験法「LC-MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物)」、食安発第 1129002 号平成 17 年 11 月 29 日)で得られた分析値を標準添加法により求め比較した。

## 2. 畜水産物中残留動物用医薬品及び農薬の包括的スクリーニング分析法の開発

平成 24 年度は、平成 23 年度までに開発した分析法に若干改良を加えた方法を用いて、畜水産物 10 食品(牛の筋肉、鶏の筋肉、牛の肝臓、牛の脂肪、牛乳、鶏卵、ウナギ、サケ、しじみ及

びはちみつ(ソバはちみつ))を対象に、農薬等 351 化合物(動物用医薬品 145、農薬 206)を用いて添加回収試験(添加濃度 0.01 ppm、5 併行)を行い、開発した分析法の適用性を評価した。また、各対象化合物及び各対象食品について、検量線作成用混合標準溶液のピーク面積(PA<sub>SS</sub>)に対するマトリックス添加混合標準溶液のピーク面積(PA<sub>MS</sub>)の比(PA<sub>MS</sub>/PA<sub>SS</sub>)を算出し、試料マトリックスが各対象化合物の測定値に及ぼす影響を確認した。

(倫理面への配慮)

人、動物を研究対象としていないため特に必要としなかった。

## C. 研究結果

### 1. 新規分析技術を用いた農産物中残留農薬のスクリーニング分析法の開発

#### 1-1. 測定条件の検討

GC-MS/MS の注入法として用いたホットニードル法の注入条件を最適化するために、炭素鎖 10～33 の *n*-アルカンのピーク面積値を指標として、シリンジ先端を注入口に導入後の保持時間(Pre-injection time)と注入口温度について検討した。Pre-injection time については、注入口温度を 240°C、Post-injection time を 0.5 秒に設定し、Pre-injection time 0、1、2、4 秒での *n*-アルカンのピーク面積値を比較した結果、3 秒に設定することにした。注入口温度については、Pre-injection time を 3 秒、Post-injection time を 0.5 秒に設定し、注入口温度 200、220 及び 240°C での *n*-アルカンのピーク面積値を比較した結果、230°C に設定することとした。

#### 1-2. SFE 試料の調製方法の検討

SFE の障害となる過剰な試料中の水分を除くための試料調製方法について検討した。トマトを

用いて試料/セライト(1:1)3.0 g に対し、無水硫酸マグネシウムを 0、0.75、1.5、2.25 g 加えて各農薬の回収率を比較した。その結果、無水硫酸マグネシウムを混合することにより回収率が向上したが、2.25 g を混合した場合には、1.5 g を混合した場合より若干回収率が低下する農薬が多かった。このため、昨年度開発した LC-MS/MS 法と同様に試料/セライト(1:1)3.0 g に無水硫酸マグネシウム 1.5 g を混合して抽出を行うこととした。

### 1-3. SFE 条件の検討

SFE 条件を最適化するために、モディファイヤーとしてメタノール 0.2 mL をトマト試料に添加して、①CO<sub>2</sub>密度(検討範囲:0.3~0.8 g/mL、抽出温度 40°C、抽出時間 30 分)、②抽出温度(検討範囲:32~50°C、抽出時間 30 分、CO<sub>2</sub>密度 0.8 g/mL)及び③抽出時間(検討範囲:10~30 分、CO<sub>2</sub>密度 0.8 g/mL、抽出温度 40°C)の回収率に対する影響を検討した。検討の結果、CO<sub>2</sub>密度 0.8 g/mL、抽出温度 40°C及び抽出時間 30 分に設定することとした。

極性の高い農薬の抽出効率を高めるために、試料にモディファイヤーとして抽出容器の底部に添加する極性溶媒の種類(メタノール、アセトニトリル及びアセトン)と量(0~0.5 mL)について検討した。その結果、特に効果の高かったメタノールをモディファイヤーとして用い、0.2 mL を添加することとした。

ODS トラップカラムからの溶出溶媒についてアセトニトリル及びメタノールを比較したところ、アセトニトリルの方が溶出される夾雑成分が少なかったことから、ODS トラップカラムからアセトニトリル 2 mL で溶出を行うこととした。

精製方法について検討し、SFE 抽出液(2 mL)を濃縮せずにそのまま PSA ミニカラムに負荷し、さらにアセトニトリル 4 mL で溶出を行うことにより、

ビフェニルを除いた全ての農薬で良好な回収率が得られた。

### 1-4. SFE 法での添加回収試験

市販のトマト及びほうれんそうを用いて、101 化合物について添加濃度 0.1 及び 0.01 ppm で 5 併行の添加回収試験を行った結果、ビフェニル及びピリフェノックス(E)を除き、検討した農薬では真度(目標値 70~120%)及び併行精度(目標値 添加濃度 0.1 ppm <15%; 添加濃度 0.01 ppm <25%)の目標値を満たした。

### 1-5. 分析値の比較

農薬が残留した試料を用いて、確立した SFE 法と溶媒抽出法とで分析値の比較を行った。その結果、果実・野菜 3 試料から延べ 4 農薬が検出され、いずれも SFE 法と溶媒抽出法でほぼ同等の分析値が得られた。

## 2. 畜水産物中残留動物用医薬品及び農薬の包括的スクリーニング分析法の開発

### 2-1. 添加回収試験結果

動物用医薬品では、検討した 10 食品中 8 食品以上で、回収率 50%以上の化合物数は、121 (83%)、回収率 70%~120%の化合物数は 109 (75%)であった。9 食品以上で、回収率 50%以上の化合物数は 116 (80%)、回収率 70%~120%の化合物数は 98 (68%)であった。また、検討 10 食品全てにおいて、回収率 50%以上の化合物数は 99 (68%)、回収率 70%~120%の化合物数は 59 (41%)であった。

農薬では、検討した 10 食品中 8 食品以上で、回収率 50%以上の化合物数は 192 (93%)、回収率 70%~120%の化合物数は 174 (84%)であった。9 食品以上で、回収率 50%以上の化合物数は 188 (91%)、回収率 70%~120%の化合物数は 164 (80%)であった。また、検討 10 食品全てにおいて、回収率 50%以上の化合物数は 181

(88%)、回収率 70%~120%の化合物数は 125 (61%)であった。

## 2-2. 試料マトリックスの測定への影響

動物用医薬品では、検討した 10 食品中 8 食品以上で、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.5 以上の化合物数は 145 (100%)、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.7~1.2 の化合物数は 141 (97%)であった。9 食品以上で、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.5 以上の化合物数は 145 (100%)、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.7~1.2 の化合物数は 141 (97%)であった。また、検討 10 食品全てにおいて、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.5 以上の化合物数は 143 (99%)、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.7~1.2 の化合物数は 120 (83%)であった。

農薬では、検討した 10 食品中 8 食品以上で、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.5 以上の化合物数は 204 (99%)、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.7~1.2 の化合物数は 190 (92%)であった。9 食品以上で、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.5 以上の化合物数は 204 (99%)、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.7~1.2 の化合物数は 184 (89%)であった。また、検討 10 食品全てにおいて、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.5 以上の化合物数は 195 (95%)、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.7~1.2 の化合物数は 156 (76%)であった。

## D. 考察

### 1. 新規分析技術を用いた農産物中残留農薬のスクリーニング分析法の開発

#### 1-1. 測定条件の検討

用いた GC-MS/MS 装置では、試験溶液の注入方法にホットニードル法が採用されている。農産物の試験溶液は、高沸点化合物を含む様々な食品成分を含んでおり、効率的に試験溶液を GC-MS/MS に導入するためには、ホットニードル法の注入条件を最適化する必要がある。ホットニードル法で、最も影響を及ぼす条件は、Pre-injection time 及び注入口温度である。そこで、低沸点から高沸点までの複数の成分を含ん

だ *n*-アルカン混合標準溶液 ( $C_{10}H_{22}$ 、 $C_{15}H_{32}$ 、 $C_{20}H_{42}$ 、 $C_{25}H_{52}$ 、 $C_{30}H_{62}$ 、 $C_{33}H_{65}$ ) を用いて、Pre-injection time と注入口温度について最適な条件を検討した。

その結果、炭素鎖 20 以下の *n*-アルカンでは、Pre-injection time による大きな影響はみられなかったのに対して、炭素鎖 30 以上の長鎖 *n*-アルカンでは影響が見られた。これは、炭素鎖 30 以上の長鎖 *n*-アルカンは高沸点であるため、Pre-injection time が短いとシリンジ先端の加熱が不十分となり、試験溶液を注入した際にシリンジ先端での気化が不十分になるためと考えられる。Pre-injection time が 2 秒以上では、検討した全ての *n*-アルカンで面積値に差は見られなかったことから、シリンジ先端を注入口に導入後 2 秒以上保持することにより均一な気化に十分な温度が得られるものと考えられた。そのため本研究では Pre-injection time を 3 秒に設定した。注入口温度については、200~240°C の範囲で検討したが、200°C では高沸点である炭素鎖 33 の *n*-アルカンの面積値が低下し、220 及び 240°C では面積値に差は見られなかった。従って、高沸点の成分を効率よく気化させるためには 220°C 以上必要であるが、温度が高すぎると対象化合物が分解しやすくなる可能性がある。よって、注入口温度は 230°C に設定した。

#### 1-2. SFE 試料の調製方法の検討

果実・野菜のような水分含量が高い試料では、試料中の水により、超臨界流体の流れが阻害されたり、ノズルやトラップなどが詰まったりすることがある。このため、乾燥剤やケイソウ土などを試料に混合して過剰な水分を吸収させる必要がある。LC-MS/MS 測定可能な農薬を対象とした昨年度は、試料/セライト(1:1)3.0 g に無水硫酸マグネシウム 1.5 g を混合した。今年度は、GC-MS/MS 測定可能な中~低極性農薬を対象



とするため、改めて最適な無水硫酸マグネシウムの添加量について検討した。トマトを用いた検討では、無水硫酸マグネシウムを混合しなくても農薬の多くで 80%以上の回収率が得られた。これは、対象とした農薬の極性が中～低極性であったため、ある程度試料中に水分が残っていても超臨界 CO<sub>2</sub> に分配しやすかったためと推察される。無水硫酸マグネシウムを添加すると、いったん回収率が増加し、さらに添加量を増やすと回収率が低下する傾向が見られた。回収率の増加は、無水硫酸マグネシウムにより過剰な水分が除かれたため、より超臨界 CO<sub>2</sub> に分配しやすくなったためと考えられた。その後無水硫酸マグネシウムの添加量を増やした場合には、更に試料中の水分の除去が進むため、超臨界 CO<sub>2</sub> の極性の低下、試料マトリックスと農薬との相互作用の増加などにより、回収率が低下したものと推察された。

### 1-3. SFE 条件の検討

SFE の抽出効率は CO<sub>2</sub> 密度によって大きく変わることが知られている。そこで、CO<sub>2</sub> 密度の影響について検討したところ、CO<sub>2</sub> 密度 0.3 g/mL では低回収率となる農薬が多かったが、CO<sub>2</sub> 密度を高くするほど高回収率となり、0.7 g/mL 以上では検討した農薬の多くで良好な結果が得られた。CO<sub>2</sub> 密度 0.9 g/mL では、用いた装置の圧力上限付近となるため、CO<sub>2</sub> 密度は 0.8 g/mL に設定することとした。抽出温度の影響について検討した結果、32℃では回収率が 80%以下となる農薬が多かったが、40℃以上では検討した農薬の多くで回収率が増加し、40℃及び50℃では大きな差は見られなかったことから、抽出温度は 40℃とした。抽出時間については、10 分では低回収率となる農薬が多かったが、15 分以上では良好な回収率が得られたことから、本研究では余裕を見て 30 分に設定することとした。

超臨界流体として用いた CO<sub>2</sub> はヘキサン程度の低極性であるため、高極性化合物は抽出されにくい。昨年度の検討において、流体あるいは試料に少量の極性溶媒をモディファイヤーとして添加することにより、アセフェート等の比較的高極性の化合物の抽出効率が向上することを示した。今年度はモディファイヤーを添加しなくても大部分の農薬で 80%以上の回収率が得られたが、これは、GC-MS/MS 測定可能な中～低極性化合物を対象としているためと考えられた。モディファイヤーの添加について検討した結果、マイクロタニル等の一部の農薬では添加により回収率が向上したことから、特に効果の高かったメタノールをモディファイヤーとして 0.2 mL 添加することとした。

ODS トラップカラムからの溶出溶媒にアセトリルを用いたことにより、緑色色素等の低極性夾雑成分を減少させることができ、精製効果が期待できた。しかし、GC-MS/MS 測定は LC-MS/MS 測定と比較して、夾雑成分の影響を受けやすいことから、SFE 抽出液を PSA ミニカラムで更に精製し、酸性の夾雑成分を除去した後、測定を行うこととした。PSA ミニカラム精製により黄色色素等を除去することができた。

### 1-4. SFE 法での添加回収試験

添加回収試験の結果、トマト及びほうれんそうのいずれにおいても回収率が 70%未満であったのは、検討した 101 化合物のうち、ビフェニルのみであり、ODSトラップカラム及びPSAミニカラムからの回収率が低いことが原因と考えられた。また、ピリフェノックスは弱塩基化合物であることから、トマトのような弱酸性条件下ではセライト及び硫酸マグネシウムに保持された水分に分配され、抽出されにくいことがやや真度が低い原因と考えられた。上記以外の農薬では良好な結果が得られ、開発した SFE 法は、果実・野菜中の

GC-MS/MS 測定対象の中～低極性農薬に対しても有効な方法であることが示された。

### 1-5. 分析値の比較

農薬が残留した試料を用いて、確立した SFE 法と溶媒抽出法で分析値を比較する場合、マトリックスの影響により、溶媒標準溶液を用いた絶対検量線法では正確な分析値の比較ができなると考えられたことから、1 点標準添加法によって分析値を求めた。その結果、SFE 法と溶媒抽出法でほぼ同等の分析値が得られたことから、開発した SFE 法は既存の溶媒抽出法と同等の分析値を与えることが示唆された。

## 2. 畜水産物中残留動物用医薬品及び農薬の包括的スクリーニング分析法の開発

### 2-1. 添加回収試験結果

本研究において開発した分析法について、畜水産物 10 食品(牛の筋肉、鶏の筋肉、牛の肝臓、牛の脂肪、牛乳、鶏卵、ウナギ、サケ、しじみ及びはちみつ)を用いた添加回収試験を行い評価した。その結果、本研究で開発した分析法は、0.01 mg/kg の添加濃度で、多くの対象食品及び対象化合物において 50%以上の回収率が得られたことから、本法は畜水産物中に 0.01 mg/kg 以上の濃度で残留する動物用医薬品及び農薬の包括的スクリーニング分析法として有用であると考えられた。

また、対象 10 食品中 9 食品以上で回収率 70%～120%の範囲内の化合物数は、動物用医薬品で 98(対象化合物の 68%)、農薬で 168(対象化合物の 80%)であった。これらの対象化合物／対象食品の組合せにおける併行精度は、サケのインドキサカルブ(回収率 89%、併行精度 25.3%)を除いて 20%未満であり、比較的良好な精度を有していることが確認された。従って、これらの対象化合物／対象食品の組合せについ

ては、定量性も良好であることから、残留基準値の適合判定を行うための分析法としても使用できると考えられた。

### 2-2. 試料マトリックスの測定への影響

検討 10 食品中 9 食品以上で  $PA_{MS}/PA_{SS}$  が 0.7～1.2 の範囲内であった対象化合物数は、農薬で 184(対象化合物の 89%)、動物用医薬品で 141(対象化合物の 97%)であった。従って、開発した分析法で用いた精製操作により、種々の畜水産物中の試料マトリックスを効果的に除去可能であり、LC-MS/MS 測定において、多くの対象化合物が試料マトリックスの影響を大きく受けることなく測定可能であると推察された。

$PA_{MS}/PA_{SS}$  が 1.2 以上の対象化合物／対象食品の組合せについては、回収率も同様に高い値を示したことから、抽出から精製工程における損失は少なく、測定の際に試料マトリックスの影響を受けていると推察された。これらの化合物・食品の組合せについては、偽陰性の可能性は低いため、スクリーニングを目的とした分析には使用可能であると考えられた。しかし、分析値は実際の残留濃度よりも大きく見積もられている可能性が高いため、別途適切な分析値を得られる分析法を用いた確認が必須であると考えられた。また、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  が 0.5 未満の化合物／食品の組合せについては、偽陰性の結果を与える可能性が高いと考えられるため、本法は適用できず、他の適切な結果が得られる分析法を用いて分析を実施する必要があると考えられた。

一方、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  の値は良好であるにも関わらず、回収率が低い化合物も確認された。このような結果が得られた化合物は、本法で用いた精製ミニカラムからの回収率が良好でないものがほとんどであった。従って、これらの化合物については、試料からの抽出が良好であっても、精製操作において回収率が著しく低下するため、

本法の適用は困難と考えられた。

## E. 結論

### 1. 新規分析技術を用いた農産物中残留農薬のスクリーニング分析法の開発

GC-MS/MS で測定可能な 101 化合物を対象に SFE 法の果実・野菜中の残留農薬一斉分析への適用について検討し、試料を SFE 後、PSA ミニカラムで精製して GC-MS/MS 測定する簡便なスクリーニング法を確立した。農薬が残留した試料を用いて SFE 法と溶媒抽出法の分析値を比較した結果、両者でほぼ同等の結果が得られた。確立した SFE 法は、ミニカラム精製を追加した以外は、H23 年度に開発した LC-MS/MS で測定可能な農薬を対象とした方法と、試料調製方法や SFE 条件が同じである。従って、本法は LC-MS(/MS)または GC-MS(/MS)で測定可能な高極性～低極性の広範囲の農薬に適用可能な方法であり、果実・野菜中の効率的な残留農薬スクリーニング法として有用であると考えられた。

### 2. 畜水産物中残留動物用医薬品及び農薬の包括的スクリーニング分析法の開発

検査機関におけるより効率的な検査態勢の確立を目的として、畜水産物に基準値が設定されている動物用医薬品及び農薬を対象として、これらの包括的一斉スクリーニング分析法の開発を試みた。

平成 24 年度は、平成 23 年度までに開発した分析法に改良を加え、種々の畜水産物に対する適用性を評価することを目的として、規制対象となる動物用医薬品及び農薬のうち LC-MS/MS で良好な測定感度が得られた化合物を対象に、畜水産物 10 食品を用いた添加回収試験を実施した。

その結果、多くの対象化合物／対象食品の

組合せにおいて回収率 50%以上の結果が得られ、かつ測定時の試料マトリックスの影響を大きく受ける化合物／食品の組合せは少なかったことから、本研究で開発した分析法は、種々の畜水産物中の残留動物用医薬品及び農薬の包括的スクリーニング分析法として有用であると考えられた。また、回収率 70%～120%、かつ併行精度も良好であった化合物／食品の組合せも多く、これらの組合せについては、残留基準値の適合判定を行うための分析法としても使用できると考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

齊藤静夏、根本 了、松田りえ子:LC-MS/MS による緑茶中の残留農薬一斉試験法、日本食品化学学会誌、19(2)、104-110(2012)

Shizuka Saito, Satoru Nemoto, Rieko Matsuda: Multi-residue Analysis of Pesticides in Agricultural Products by Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry, Food Hygiene and Safety Science, 53(6), 255-263 (2012)

### 2. 学会発表

齊藤静夏、根本 了、松田りえ子:超臨界流体抽出及び LC-MS/MS を用いた野菜・果実中の残留農薬一斉分析法の検討、第 103 回日本食品衛生学会学術講演会(2012.5)

Shizuka Saito, Satoru Nemoto, Rieko Matsuda: Multi-residue method for the determination of pesticides in tea by LC-MS/MS, 9th European Pesticide Residue Workshop(2012.6)

齊藤静夏、根本 了、松田りえ子:LC-MS/MS を用いた野菜・果実中酸性農薬の一斉分析法

の検討、第 104 回日本食品衛生学会学術講演  
会(2012.9)

齊藤静夏、根本 了、松田りえ子:超臨界流  
体抽出及び LC-MS/MS を用いた穀類及び茶中  
の残留農薬一斉分析法の検討、第 49 回全国衛

生化学技術協議会年会(2012.11)

Ⅱ. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

## Ⅱ. 分担研究報告

### 1. 新規分析技術を用いた農産物中残留農薬の スクリーニング分析法の開発

研究分担者 根本 了

研究協力者 齊藤 静夏

# 厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)

## 平成 24 年度 分担研究報告書

### 新規分析技術を用いた農産物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、GC-MS/MS で測定可能な 101 化合物を対象に超臨界流体抽出(SFE)法の残留農薬一斉分析への適用について検討した。SFE 条件(抽出圧力、抽出温度、抽出時間、モディファイヤーの種類及び量)や SFE 試料の調製方法について最適化し、試料を SFE 後、PSA ミニカラムで精製して GC-MS/MS 測定する簡便なスクリーニング法を確立した。果実・野菜を用いて添加濃度 0.1 及び 0.01 ppm で 5 併行の添加回収試験を行った結果、検討した農薬の大部分は真度(目標値:70~120%)及び併行精度(目標値:<15%(添加濃度 0.1ppm)、<25%(添加濃度 0.01ppm))の目標値を満たした。農薬が残留した試料を用いて SFE 法と溶媒抽出法の分析値を比較した結果、一部の農薬を除き、両者でほぼ同等の結果が得られ、SFE 法は残留農薬スクリーニング法として有効であることが示された。

#### 研究協力者

齊藤静夏(国立医薬品食品衛生研究所食品部)

#### A. 研究目的

食品に残留する農薬等(農薬、動物用医薬品および飼料添加物)に関するポジティブリスト制度が平成 18 年 5 月に施行され、現在約 830 品目(農薬約 610 品目、動物用医薬品約 220 品目)の農薬等が規制対象となっている。このような膨大な数の品目を検査するためには、迅速且つ効率的な一斉分析法の確立が望まれる。

我々は昨年度、LC-MS/MS で測定可能な中～高極性の農薬 123 化合物を対象に超臨界流体抽出(SFE)法の残留農薬分析への適用について検討を行い、試料を SFE 後、クリーンアップなしで LC-MS/MS 測定を行う簡便な分析法を確立した。LC-MS/MS では低極性化合物の測定が困難であることから、本年度は GC-MS/MS で

測定可能な中～低極性の農薬 101 化合物を対象に SFE 法を用いた果実・野菜中の残留農薬一斉分析法を検討した。確立した方法で農産物を用いて添加回収試験を行うとともに、農薬が残留した試料を用いて分析値を溶媒抽出法と比較し、SFE 法の残留農薬分析への適用性について検討したので報告する。

#### B. 研究方法

##### 1. 試料

東京都内の小売店で購入したものをフードカッターで細切均一化して用いた。

##### 2. 試薬及び試液

有機溶媒は、関東化学(株)製の残留農薬試験用試薬を用いた。硫酸マグネシウム(無水、特級)は関東化学(株)製を用いた。ケイソウ土(セライト 545)、硫酸ナトリウム(無水、残留農薬試験用)、リン酸水素二カリウム(無水、特級)及びリン

酸二水素カリウム(無水、特級)は、和光純薬工業(株)製を用いた。試験溶液の調製で用いた水は、超高純度蒸留水精製装置で蒸留したものをを用いた。ガラス繊維ろ紙(GF/F)は Whatman 社製を用いた。

表 1 に検討に用いた農薬(101 化合物)を示した。各農薬標準品は、林純薬工業(株)、関東化学(株)、和光純薬工業(株)、Dr. Ehrenstorfers 社及び Riedel-de Haën 社の残留農薬試験用試薬を用いた。標準原液(1000 mg/L)は、各農薬 10 mg を精秤し、ヘキサン(ヘキサンに溶解しにくい場合はヘキサン/アセトンの混合溶媒に溶解) 10 mL に溶解して調製した。添加用混合標準溶液は、各農薬の標準原液を混合し、アセトンで適宜希釈して調製した。検量線作成用の混合標準溶液は、添加用混合標準溶液をヘキサン/アセトン(1:1)で適宜希釈して用事調製した。*n*-アルカン混合標準溶液(炭素鎖 7~14 及び 16~29 100 mg/L、15 及び 30~33 200 mg/L、ヘキサン溶液、林純薬工業(株)製)は、ヘキサンで適宜希釈して用いた。

リン酸緩衝液(0.5 mol/L、pH7.0)は、以下の通りに調製した。リン酸水素二カリウム 52.7 g 及びリン酸二水素カリウム 30.2 g を量り採り、水約 500 mL に溶解し、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液または 1 mol/L 塩酸を用いて pH を 7.0 に調整した後、水を加えて 1 L とした。

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル(PSA)ミニカラムは InertSep PSA(200 mg、ジーエルサイエンス社製)、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(NH<sub>2</sub>)積層ミニカラムは InertSep GC/NH<sub>2</sub>(500 mg/500 mg、ジーエルサイエンス社製)を用いた。

### 3. 装置

フードカッターは Retsch 社製 Grindomix

GM200、ホモジナイザーは Kinematica 社製 Polytron PT 10-35 GT を用いた。超高純度蒸留水精製装置は、藤原製作所(株)製の NZJ-2DSYW を用いた。GC-MS/MS は、Thermo Fisher Scientific 社製ガスクロマトグラフ質量分析計 TSQ Quantum XLS Ultra 及びオートサンプラー TriPlus RSH を使用した。SFE 装置は、日本分光(株)製の超臨界二酸化炭素流体抽出装置を用いた。

### 4. GC-MS/MS 測定条件

カラム DB-5ms(内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25  $\mu$ m、Agilent 社製); ガードカラム 不活性キャピラリー(内径 0.25 mm、長さ 2 m、Agilent 社製); ライナー 不活性化処理済みのシングルテーパ付のもの; カラム温度 50°C(1 min) - 25°C/min - 125°C(0 min) - 10°C/min - 300°C(8.5 min); 注入口温度 230°C; トランスファーライン温度 280°C; キャリヤーガス ヘリウム; キャリヤーガス流量 1 mL/min; 注入法 ホットニードル法(Pre-injection time 3 s、Post-injection time 0.5 s); 注入量 2  $\mu$ L; イオン化法 EI(+); イオン化エネルギー 70 eV; イオン源温度 230°C; 測定モード SRM; 測定イオン及びコリジョンエネルギー 表 1 に示した。

### 5. SFE 条件

最終的な SFE 条件を以下に示した。

抽出温度 40°C; 圧力 16.4 MPa; CO<sub>2</sub> 密度 0.8 g/mL; CO<sub>2</sub> 流速 2.0 mL/min; 抽出時間 30 分; トラップ ODS(内径 4.6 mm、長さ 50 mm、粒子径 30  $\mu$ m、充填量 0.45 g、ジーエルサイエンス(株)製); トラップ温度 30°C; トラップからの溶出 アセトニトリル 2 mL で溶出し、これを SFE 抽出液とした。その後、ヘキサン/アセトン(1:1)10 mL(2.0 mL/min)で洗浄し、アセトニトリ

ル 10 mL (2.0 mL/min) でコンディショニングを行った。

## 6. 試験溶液の調製

### 6.1 SFE 法

試料 5.0 g を乳鉢に採り、セライト 5.0 g を加えた後、無水硫酸マグネシウム 5.0 g を加えて、よく混合した。農薬等を添加する場合には、試料に添加回収試験用の混合標準溶液を添加して良く混合し、30 分間放置したものを試料とした。試料混合物 4.5 g (試料 1.5 g 相当) を抽出管に充填した。この時、試料の微粒子による目詰まりを防ぐため、ガラス繊維ろ紙を抽出管の両端に入れた。また、モディファイヤーとして抽出管の底部にメタノール 0.2 mL を添加して SFE を行った。得られた SFE 抽出液を、予めアセトニトリル 4 mL でコンディショニングした PSA ミニカラム (200 mg) に負荷し、さらにアセトニトリル 4 mL で溶出した。全溶出液を 40°C 以下で約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流により溶媒を除去し、アセトン/ヘキサン (1:1) 1.5 mL に溶解したものを試験溶液 (試料 1.0 g 相当/mL) とした。

### 6.2 溶媒抽出法

通知一斉試験法「LC-MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物)」(食安発第 1129002 号 平成 17 年 11 月 29 日) に従って以下のように行った。

試料 20.0 g にアセトニトリル 50 mL を加え、約 1 分間ホモジナイズした後、ケイソウ土を約 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過した。残留物を採り、アセトニトリル 20 mL を加え、上記と同様にホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とした。抽出液 20 mL (試料 4.0 g 相当) を採り、塩化ナトリウム 10 g 及びリン酸緩衝液 (0.5 mol/L、pH 7.0)

20 mL を加えて 10 分間振とう後、毎分 3000 回転で 5 分間遠心分離を行った。得られたアセトニトリル層を採り、40°C 以下で約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流により溶媒を除去した。この残留物をアセトニトリル/トルエン (3:1) 2 mL に溶解した。

グラファイトカーボン/NH<sub>2</sub> 積層ミニカラム (500 mg/500 mg) にアセトニトリル/トルエン (3:1) を 10 mL 注入し、流出液は捨てた。このカラムに得られた溶液を注入した後、アセトニトリル/トルエン (3:1) 20 mL を注入した。全溶出液を 40°C 以下で約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流により溶媒を除去した。残留物をアセトン/ヘキサン (1:1) 4 mL に溶解したものを試験溶液 (試料 1.0 g 相当/mL) とした。

## 7. SFE 法での添加回収試験

市販のトマト及びほうれんそうを用いて、試料中濃度 0.1 及び 0.01 ppm で 5 併行の添加回収試験を行った。添加回収試験における回収率 12.5、25、50、75、100 及び 150% 相当濃度のマトリックス添加標準溶液を調製し、ピーク面積法で検量線を作成して濃度を求めた。

## 8. 分析値の比較

農薬が残留した試料を用いて、SFE 法と溶媒抽出法での分析値を標準添加法により比較した。「6. 試験溶液の調製」で得られた各試験溶液 50 μL を採り、溶媒標準溶液 (20 ng/mL、りんごでは 5 ng/mL) 50 μL を加えて混合し、それぞれ 2 μL を GC-MS/MS に注入して、ピーク面積法で濃度を求めた。

(倫理面への配慮)

人、動物を研究対象としていないため特に必要としなかった。



## C. 研究結果及び考察

### 1. 測定条件の検討

ホットニードル法による注入条件について、*n*-アルカン混合標準溶液を用いて検討した。まず、Pre-injection time を最適化するため、注入口温度を240°C、Post-injection time を0.5秒に設定し、Pre-injection time 0、1、2、4秒での*n*-アルカンのピーク面積値(*n*=2)を比較した。図1には、Pre-injection time 4秒でのピーク面積値を100としたときの各条件での値を示した。炭素鎖20以下の*n*-アルカンは、Pre-injection time 0~1秒の場合でも面積値に変化はなかった。これに対し、炭素鎖30以上の長鎖*n*-アルカンは高沸点であるため、Pre-injection time 0~1秒での面積値は、4秒での面積値と比較して小さくなった。Pre-injection time 2秒以上では、炭素鎖10~33の検討した全ての*n*-アルカンで面積値に差は見られなかったことから、本研究ではPre-injection time を3秒に設定することとした。

次に、注入口温度について最適化するため、Pre-injection time を3秒、Post-injection time を0.5秒に設定し、注入口温度200、220及び240°Cを検討(各*n*=2)した。図2には、240°Cでの面積値を100としたときの値を示した。その結果、200°Cでは、高沸点である炭素鎖33の*n*-アルカンの面積値が低下したが、220及び240°Cでは面積値に差は見られなかった。これらの結果から、注入口温度を230°Cに設定することとした。

### 2. SFE 試料の調製方法の検討

果実・野菜のような水分を多く含む試料では、試料中の水により、超臨界流体の流れが阻害されたり、ノズルやトラップなどが詰まったりすることがある。このため、乾燥剤やケイソウ土などを試料に混合して過剰な水分を吸収させる必要があ

る。昨年度はLC-MS/MSで測定可能な農薬123化合物について検討を行い、試料/セライト(1:1)3.0gに無水硫酸マグネシウム1.5gを混合したものを抽出することにより、アセフェートやメタミドホス等の高極性農薬についても良好な回収率が得られることを示した。本検討はGC-MS/MSで測定可能な中~低極性農薬を対象としており、LC-MS/MS測定対象農薬とは最適な無水硫酸マグネシウム量は異なると予想された。そこで、トマトを用いて試料/セライト(1:1)3.0gに対し、無水硫酸マグネシウムを0、0.75、1.5、2.25g加えて各農薬の回収率を比較した。結果を図3に示した。無水硫酸マグネシウムを混合せずに抽出を行った場合においても検討した農薬の多くで80%以上の回収率が得られたが、無水硫酸マグネシウム量を混合することによりさらに回収率が向上した。無水硫酸マグネシウムを2.25g混合した場合は、1.5gを混合した場合と比較して若干回収率が低下する農薬が多かったことから、昨年度開発したLC-MS/MS法と同様に試料/セライト(1:1)3.0gに無水硫酸マグネシウムを1.5gを混合して抽出を行うこととした。

### 3. SFE 条件の検討

SFEの抽出効率はCO<sub>2</sub>密度によって大きく変わることが知られている。そこで、抽出温度を40°C、抽出時間を30分に設定し、CO<sub>2</sub>密度0.3、0.5、0.7及び0.8g/mL(圧力はそれぞれ8.2、9.1、11.4及び16.4MPa)における各農薬の回収率を比較した。なお、後述するようにモディファイヤーとしてメタノール0.2mLを試料に添加して検討を行なった。代表的な農薬の結果を図4に示した。CO<sub>2</sub>密度0.3g/mLでは低回収率となる農薬が多かったが、CO<sub>2</sub>密度を高くするほど高回収率となり、0.7g/mL以上では検討した農薬の多くで良好な結果が得られた。CO<sub>2</sub>密度0.9g/mLでは、

用いた装置の圧力の上限である 30 MPa 付近となるため、CO<sub>2</sub> 密度は 0.8 g/mL になるように設定することとした。

次に、抽出温度について最適化するため、抽出温度 32 (CO<sub>2</sub> の臨界温度は 31.5°C であるため)、40 及び 50°C における各農薬の回収率を比較した (図 5)。なお、抽出時間は 30 分、抽出圧力は CO<sub>2</sub> 密度が 0.8 g/mL となるように設定した (32°C 12.4 MPa; 40°C 16.4 MPa; 50°C 21.4 MPa)。また、モディファイヤーとしてメタノール 0.2 mL を試料に添加して検討を行った。その結果、32°C では回収率が 80% 以下となる農薬が多かったが、40°C 以上では改善し、検討した農薬の多くで良好な回収率が得られた。40°C 及び 50°C での結果を比較したところ、回収率に大きな差は見られなかったことから、抽出温度は 40°C とし、抽出圧力は CO<sub>2</sub> 密度 0.8 g/mL となる 16.4 MPa に設定することとした。

抽出時間について 10~30 分の範囲で検討した (図 6)。その結果、抽出時間 10 分では低回収率となる農薬が多かったが、15 分以上では良好な回収率が得られた。本研究では抽出時間を 30 分に設定することとした。

超臨界流体として用いた CO<sub>2</sub> はヘキサン程度の低極性であるため、高極性化合物は抽出されにくい。しかし、前年度の検討において、流体あるいは試料に少量の極性溶媒をモディファイヤーとして添加し、極性を調製すればアセフェートやメタミドホス等の比較的極性の高い化合物の抽出効率が向上することを示した。本検討は GC-MS/MS で測定可能な中~低極性化合物を対象としているため、モディファイヤーを添加しなくても大部分の農薬で 80% 以上の回収率が得られたが、回収率をさらに向上させるため、モディファイヤーの添加を検討した。まず、モディ

ファイヤーとして添加する極性溶媒の種類を選択するため、試料 (抽出容器の底部、CO<sub>2</sub> の流入側) に直接、メタノール、アセトニトリル及びアセトン各 0.2 mL を添加し、各農薬の回収率を比較した。図 7 に代表的な農薬の結果を示した。検討した農薬の多くはモディファイヤーを添加しなくても良好な回収率が得られたが、ミクロブタニル等の一部の農薬はモディファイヤーを添加することによって回収率が向上したことから、特に効果の高かったメタノールをモディファイヤーとして用いることとした。添加するメタノール量を 0~0.5 mL の範囲で検討した結果 (図 8)、検討した農薬の多くで高回収率が得られた 0.2 mL を添加することとした。

ODS トラップカラムからの溶出溶媒についてアセトニトリル及びメタノールを比較したところ、アセトニトリルの方が緑色色素等の低極性夾雑成分が溶出されにくく、精製効果が高かった。溶出溶媒としてアセトニトリル (溶出溶媒量 2 mL) を用いて各農薬の ODS トラップカラムからの回収率を求めたところ、ビフェニル (回収率 56%) を除いた全ての農薬で 80% 以上の良好な回収率が得られた。これらの結果から、ODS トラップカラムからアセトニトリル 2 mL で溶出を行うこととした。

GC-MS/MS 測定は夾雑成分の影響を受けやすいことから、SFE で得られた抽出液を PSA ミニカラムで精製し、酸性の夾雑成分を除去した後、測定を行うこととした。SFE 抽出液 (2 mL) を濃縮せずにそのまま PSA ミニカラムに負荷し、さらにアセトニトリル 4 mL で溶出を行うことにより、黄色色素等を除去することができた。PSA ミニカラムからの各農薬の回収率を求めたところ、ビフェニル (41%) を除いた全ての化合物で良好な回収率が得られた。

#### 4. SFE 法での添加回収試験

市販のトマト及びほうれんそうを用いて、101 化合物について添加濃度 0.1 及び 0.01 ppm で 5 併行の添加回収試験を行った(表 2)。その結果、ピフェニル及びピリフェノックス(E)を除き、検討した農薬では真度(目標値 70~120%)及び併行精度(目標値 添加濃度 0.1 ppm <15%; 添加濃度 0.01 ppm <25%)の目標値を満たした。ほうれんそう及びトマトいずれも回収率が 70%未満であったのはピフェニルのみであり、ODSトラップカラム及び PSA ミニカラムからの回収率が低いことが真度が低い原因と考えられた。また、ピリフェノックスは弱塩基化合物であることから、トマトのような弱酸性条件下ではセライト及び硫酸マグネシウムに保持された水分に分配され、抽出されにくいことがやや真度が低い原因と考えられた。

#### 5. 分析値の比較

農薬が残留した試料を用いて、確立した SFE 法と溶媒抽出法での分析値の比較を行った。溶媒抽出法は通知一斉試験法「LC-MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物)」(食安発第 1129002 号 平成 17 年 11 月 29 日)に従って行った。マトリックスの影響により、溶媒標準溶液を用いた絶対検量線法では正確な分析値は得られないと考えられたことから、1 点標準添加法によって分析値を求めた。結果を表 3 に示した。果実・野菜 3 試料から延べ 4 農薬が検出され、いずれも SFE 法と溶媒抽出法でほぼ同等の分析値が得られた。なお、検出された農薬はいずれも基準値未満であった。

#### D. 結論

GC-MS/MS で測定可能な 101 化合物を対象に SFE 法の残留農薬一斉分析への適用につい

て検討した。SFE 試料の調製方法や SFE 条件(抽出圧力、抽出温度、抽出時間、モディファイヤーの種類及び量)について最適化し、試料を SFE 後、PSA ミニカラムで精製して GC-MS/MS 測定する簡便なスクリーニング法を確立した。果実・野菜を用いて添加濃度 0.1 及び 0.01 ppm で 5 併行の添加回収試験を行った結果、検討した農薬の大部分は真度及び併行精度の目標値を満たした。農薬が残留した試料を用いて SFE 法と溶媒抽出法の分析値を比較した結果、両者でほぼ同等の結果が得られた。確立した SFE 法は、H23 年度に開発した LC-MS/MS で測定可能な農薬を対象した方法と、試料調製方法や SFE 条件が同じである。したがって、本法は LC-MS(MS)または GC-MS(MS)で測定可能な高極性~低極性農薬を同時に抽出可能な方法であり、効率的な残留農薬スクリーニング法として有効であると考えられた。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

齊藤静夏、根本 了、松田りえ子:LC-MS/MS による緑茶中の残留農薬一斉試験法、日本食品化学学会誌、19(2)、104-110(2012)

Shizuka Saito, Satoru Nemoto, Rieko Matsuda: Multi-residue Analysis of Pesticides in Agricultural Products by Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry, Food Hygiene and Safety Science, 53(6), 255-263 (2012)

##### 2. 学会発表

齊藤静夏、根本 了、松田りえ子:超臨界流体抽出及び LC-MS/MS を用いた野菜・果実中の残留農薬一斉分析法の検討、第 103 回日本食品衛生学会学術講演会(2012.5)

Shizuka Saito, Satoru Nemoto, Rieko Matsuda:

Multi-residue method for the determination of pesticides in tea by LC-MS/MS、9th European Pesticide Residue Workshop (2012.6)

齊藤静夏、根本 了、松田りえ子:LC-MS/MSを用いた野菜・果実中酸性農薬の一斉分析法の検討、第 104 回日本食品衛生学会学術講演会(2012.9)

齊藤静夏、根本 了、松田りえ子:超臨界流体抽出及び LC-MS/MS を用いた穀類及び茶中の残留農薬一斉分析法の検討、第 49 回全国衛生化学技術協議会年会 (2012.11)

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし