

表2 絶対検量線法によるマトリックス添加標準溶液中の各検討対象農薬等の回収率

	回収率(%)		
	グラジエント条件① (勾配2.5%/分)	グラジエント条件② (勾配3.3%/分)	グラジエント条件③ (勾配4.0%/分)
SDZ	95	84	82
SMXZ	96	99	93
TBZ	84	66	82
TMP	96	84	82

表 3 d 標識安定同位体を用いた内標準法によるマトリックス添加標準溶液中の  
各検討対象農薬等の回収率

	回収率 (%)		
	グラジエント条件① (勾配2.5%/分)	グラジエント条件② (勾配3.3%/分)	グラジエント条件③ (勾配4.0%/分)
SDZ (SDZ- $d_4$ 使用)	96	92	106
SMXZ (SMXZ- $d_4$ 使用)	100	99	100
TBZ (TBZ- $d_6$ 使用)	97	89	98
TMP (TMP- $d_3$ 使用)	104	112	100
TMP- $d_9$ (TMP- $d_9$ 使用)	108	101	96

表 4  $^{13}\text{C}$  標識安定同位体を用いた内標準法によるマトリックス添加標準溶液中の  
各検討対象農薬等の回収率

	回収率 (%)		
	グラジエント条件① (勾配2.5%/分)	グラジエント条件② (勾配3.3%/分)	グラジエント条件③ (勾配4.0%/分)
SDZ (SDZ- $^{13}\text{C}_6$ 使用)	100	102	102
SMXZ (SMXZ- $^{13}\text{C}_6$ 使用)	102	102	101
TBZ (TBZ- $^{13}\text{C}_6$ 使用)	100	100	100
TMP (TMP- $^{13}\text{C}_3$ 使用)	101	100	100

表 5 各検討対象農薬等及び対応する安定同位体の  $PA_{Mstd}/PA_{Sstd} \times 100$  値

	$PA_{Mstd}/PA_{Sstd} \times 100$ 値		
	グラジエント条件① (勾配2.5%/分)	グラジエント条件② (勾配3.3%/分)	グラジエント条件③ (勾配4.0%/分)
SDZ	94	84	82
SDZ- $d_4$	100	92	79
SDZ- $^{13}C_6$	91	82	82
SMXZ	97	99	95
SMXZ- $d_4$	96	99	95
SMXZ- $^{13}C_6$	98	98	93
TBZ	84	67	80
TBZ- $d_6$	88	73	82
TBZ- $^{13}C_6$	83	68	80
TMP	96	85	81
TMP- $d_3$	97	77	81
TMP- $d_9$	95	86	88
TMP- $^{13}C_3$	88	84	77

表 6 各検討対象農薬等及び対応する安定同位体の保持時間

	グラジエント条件① (勾配2.5%/分)			グラジエント条件② (勾配3.3%/分)			グラジエント条件③ (勾配4.0%/分)		
	保持時間 (分)	差(分)	差(秒)	保持時間 (分)	差(分)	差(秒)	保持時間 (分)	差(分)	差(秒)
SDZ	12.15	/	/	11.47	/	/	11.05	/	/
SDZ- $d_4$	12.09	-0.06	-3.6	11.41	-0.06	-3.6	11.01	-0.04	-2.4
SDZ- $^{13}C_6$	12.15	0	0	11.47	0	0	11.05	0	0
SMXZ	17.94	/	/	16.00	/	/	14.88	/	/
SMXZ- $d_4$	17.89	-0.05	-3.0	15.96	-0.04	-2.4	14.85	-0.03	-1.8
SMXZ- $^{13}C_6$	17.94	0	0	16.00	0	0	14.88	0	0
TBZ	12.18	/	/	11.28	/	/	10.75	/	/
TBZ- $d_6$	12.12	-0.06	-3.6	11.22	-0.06	-3.6	10.69	-0.06	-3.6
TBZ- $^{13}C_6$	12.18	0	0	11.28	0	0	10.75	0	0
TMP	12.71	/	/	11.63	/	/	11.03	/	/
TMP- $d_3$	12.68	-0.03	-1.8	11.61	-0.02	-1.2	11.00	-0.03	-1.8
TMP- $d_9$	12.61	-0.10	-6.0	11.55	-0.08	-4.8	10.95	-0.08	-4.8
TMP- $^{13}C_3$	12.71	0	0	11.63	0	0	11.03	0	0

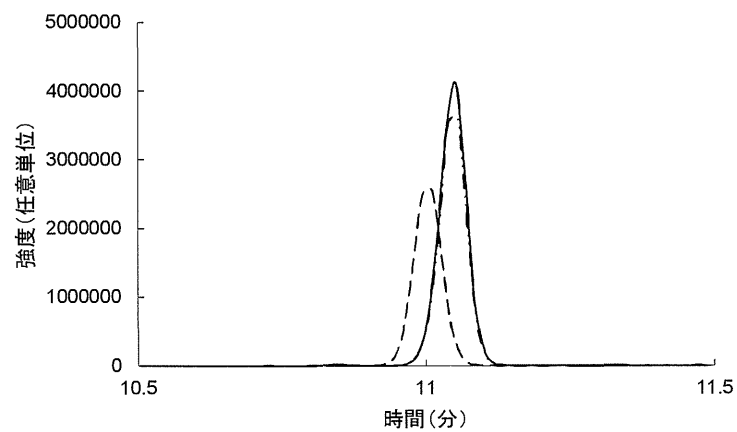
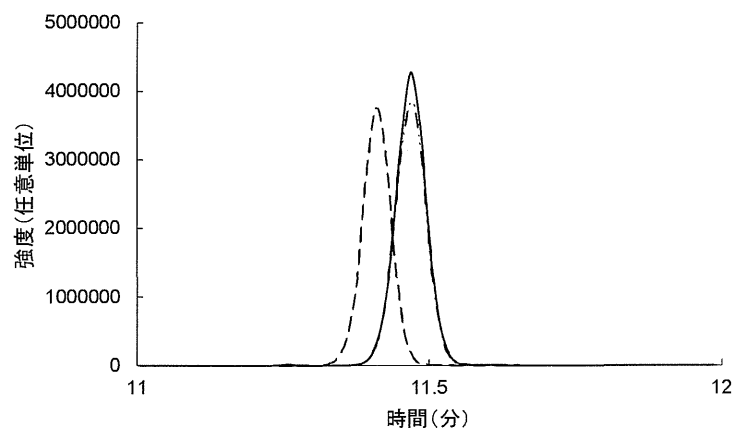
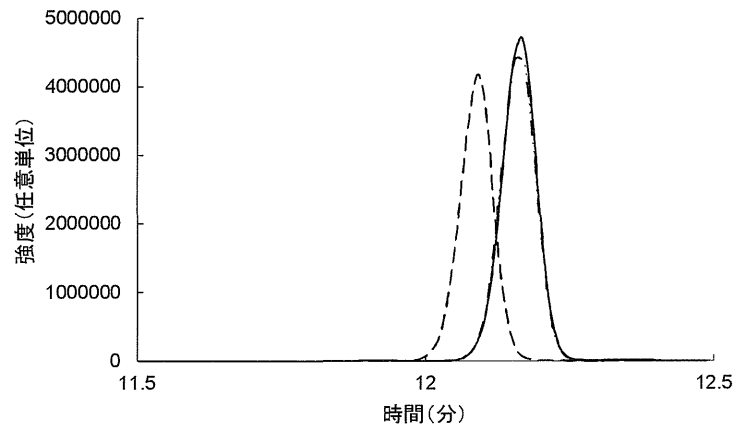


図1 マトリックス添加標準溶液中の SDZ、SDZ- $d_4$  及び SDZ- $^{13}C_6$  のクロマトグラム

—— :SDZ、---- :SDZ- $d_4$ 、- · - · :SDZ- $^{13}C_6$

上:グラジエント条件①

中:グラジエント条件②

下:グラジエント条件③

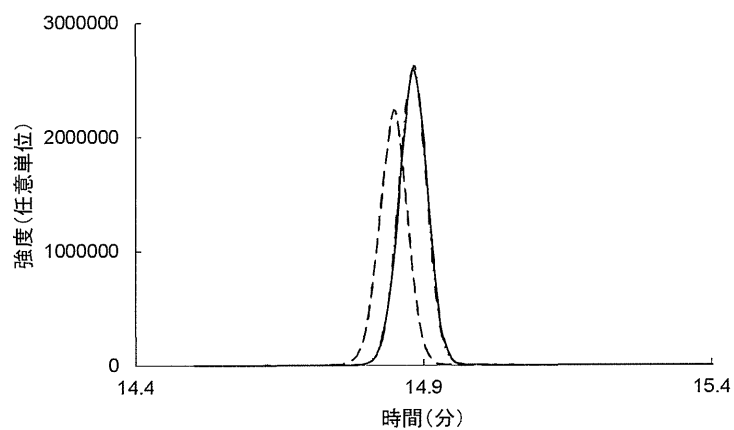
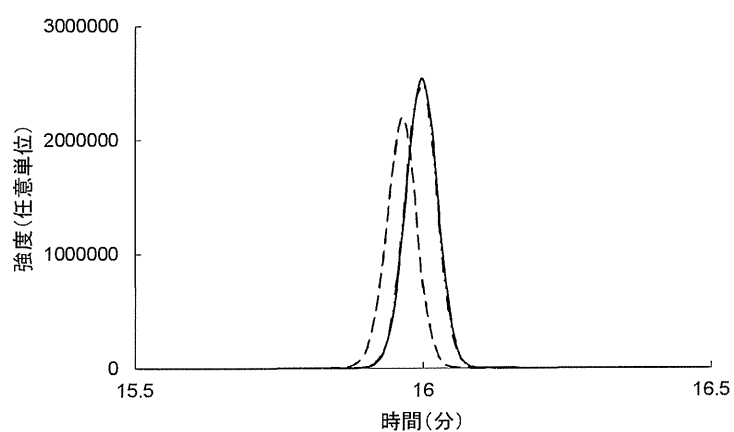
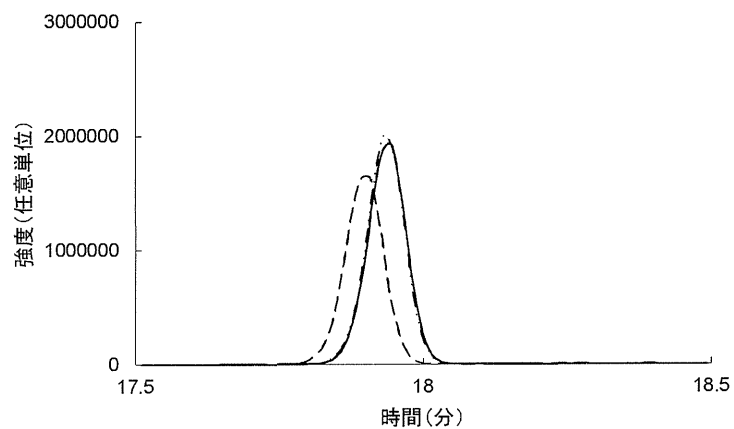


図2 マトリックス添加標準溶液中の SMXZ、SMXZ- $d_4$  及び SMXZ- $^{13}C_6$  のクロマトグラム

—— : SMXZ、---- : SMXZ- $d_4$ 、- · - · - : SMXZ- $^{13}C_6$

上: グラジエント条件①

中: グラジエント条件②

下: グラジエント条件③

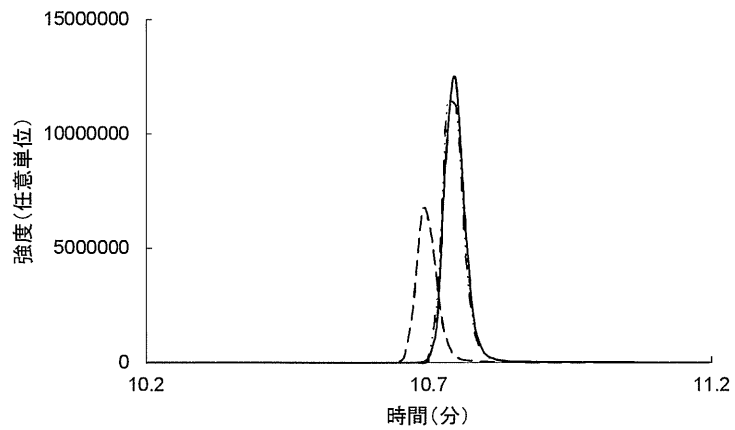
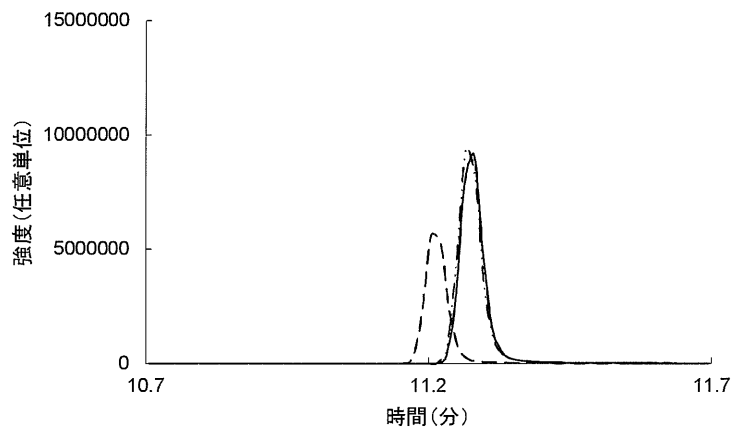
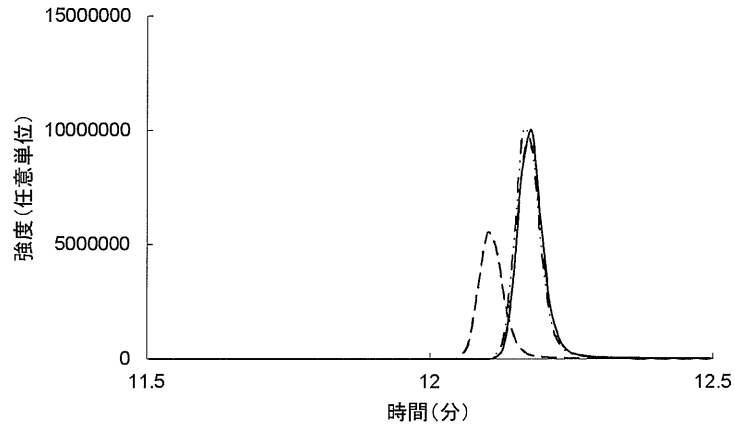


図3 マトリックス添加標準溶液中のTBZ、TBZ- $d_4$ 及びTBZ- $^{13}C_6$ のクロマトグラム  
 ———:TBZ、----:TBZ- $d_4$ 、-·-·-:TBZ- $^{13}C_6$   
 上:グラジエント条件①  
 中:グラジエント条件②  
 下:グラジエント条件③



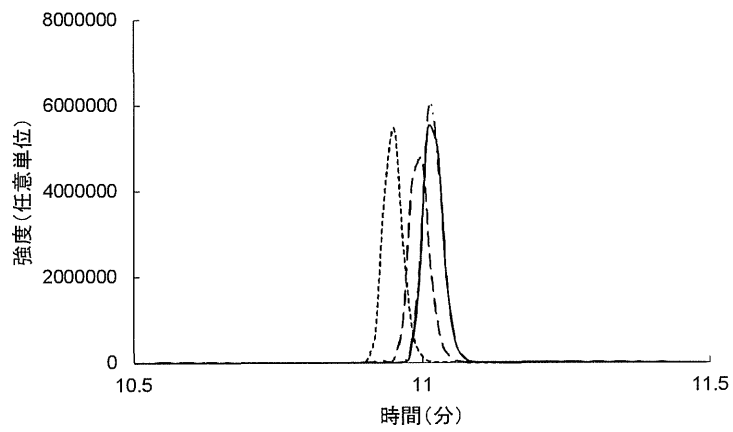
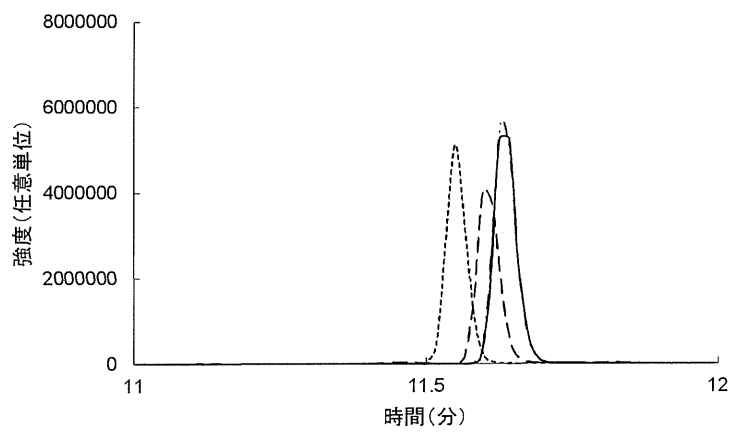
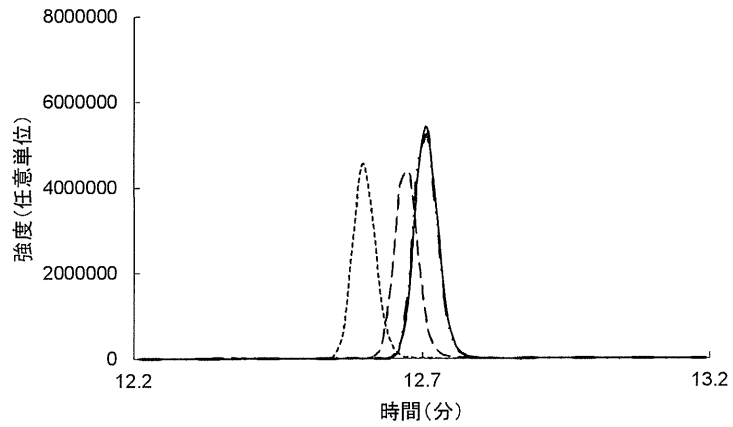


図4 マトリックス添加標準溶液中の TMP、TMP- $d_3$ 、TMP- $d_9$  及び TMP- $^{13}C_3$  のクロマトグラム

—— : TMP、---- : TMP- $d_3$ 、----- : TMP- $d_9$ 、- · - · - : TMP- $^{13}C_3$

上: グラジエント条件①

中: グラジエント条件②

下: グラジエント条件③

## Ⅱ．分担研究報告

### 2. 効率的・網羅的な分析法の開発

研究分担者 志田(齊籐)静夏



食品中残留農薬等の安全性確保に関する研究

2. 効率的・網羅的な分析法の開発

研究分担者 志田(齊藤)静夏 国立医薬品食品衛生研究所 食品部主任研究官

研究要旨

LC-TOF-MS(液体クロマトグラフ・飛行時間型質量分析計)を用いた残留動物用医薬品及び残留農薬の効率的・網羅的な分析法について検討を行った。残留動物用医薬品分析の検討では、動物用医薬品 89 化合物を用いて、TOF-MS 測定条件(キャピラリー電圧、コロン電圧、コリジョンエネルギー、脱溶媒ガス流量、脱溶媒温度)、LC 条件(注入溶媒及び注入量)及び定量解析条件(抽出質量幅)を詳細に検討した。確立した測定条件で、ピーク面積の再現性及び検量線の直線性について評価したところ、検討化合物の 9 割以上で良好な結果が得られた。残留農薬分析の検討では、玄米及び大豆を用いて 151 農薬について添加濃度 0.01 ppm で 1 日 2 併行、5 日間の妥当性評価試験を行った。玄米では感度が得られなかった 5 農薬及び試料中に残留が認められた 2 農薬を除いた 144 農薬のうち 136 農薬で、大豆では感度が得られた 146 農薬のうち 136 農薬で妥当性評価ガイドラインの真度及び精度の目標値(真度 70~120%、併行精度 RSD 25%未満、室内精度 RSD 30%未満)を満たし、いずれも選択性に問題はなかった。これらの結果から、一律基準レベルにおいて、LC-TOF-MS 法を残留農薬一斉分析へ適用可能であることが示された。

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の導入に伴い、現在約 800 品目に農薬等の基準値が設定されている。このため、食品の安全性確保のためには、膨大な数の品目について検査が必要であり、分析の迅速化・効率化が望まれている。

食品中の残留農薬等の分析では、高感度かつ高選択的な測定が可能な LC-MS/MS や GC-MS/MS 等の四重極型質量分析計が汎用されているが、設定した化合物しか検出できず、データポイント数の制約により同時に測定可能な化合物数に制限がある等の問題点がある。

一方、飛行時間型質量分析計(TOF-MS)は、化合物毎の条件設定は不要で、同時測定可能な化合物数に制限はないため網羅的な測定が可能である。したがって、LC-TOF-MS 及び

GC-TOF-MS を用いた残留農薬等一斉分析法が確立すれば、検査をより効率的かつ網羅的に行うことが可能となり、検査対象農薬等の拡大や検査に要する時間の短縮が期待されるが、残留農薬等検査への適用例は非常に少ない。

本研究では、LC-TOF-MS を用いた残留動物用医薬品及び残留農薬の効率的・網羅的な分析法について検討を行った。残留動物用医薬品分析の検討では、残留動物用医薬品の一斉分析に適した LC-TOF-MS 測定条件を詳細に検討した。一方、残留農薬分析の検討では、玄米及び大豆を用いて添加濃度 0.01 ppm で 1 日 2 併行、5 日間の妥当性評価試験を行い、LC-TOF-MS 法の一斉分析への適用について検討を行ったので報告する。

B. 研究方法

I. LC-TOF-MS 法による残留動物用医薬品分

## 析の検討

### 1. 試薬及び試液

#### (1) 有機溶媒及び試薬

アセトニトリル及びメタノールは関東化学(株)製の残留農薬試験用試薬を用いた。ギ酸は和光純薬工業(株)製の特級、*N, N*-ジメチルホルムアミドは和光純薬工業(株)製の残留溶媒試験用を用いた。移動相溶媒は、関東化学(株)製の LC-MS 用蒸留水及びアセトニトリルを用いた。

リファレンス(ロックマス)用試薬は、ロイシン-エンケファリン酢酸塩水和物(Sigma-Aldrich 社製)を水及びメタノール(1:1)混液に溶解したものを用いた。

#### (2) 標準品及び標準溶液

検討には表 1 に示した 89 化合物を用いた。各標準品は、林純薬工業(株)、関東化学(株)、和光純薬工業(株)、Sigma-Aldrich 社及び Dr. Ehrenstorfers 社製の標準品を用いた。標準原液(1000 mg/L)は、各化合物 10 mg を精秤し、アセトニトリル(アセトニトリルへの溶解性が低い場合はメタノールまたは *N, N*-ジメチルホルムアミド) 10 mL に溶解して調製した。混合標準溶液は、各化合物の標準原液を混合し、アセトニトリルで適宜希釈して調製した。

### 2. 装置

LC-TOF-MS は、ACQUITY UPLC I-Class 及び Xevo G2-S QTOF (Waters 社製)を使用した。

### 3. 測定条件

#### (1) MS 条件

イオン化法 ESI(+); キャピラリー電圧 1000 V; コーン電圧 20 V; ソース温度 120°C; 脱溶媒ガス温度 450°C; 脱溶媒ガス 800 L/h(N<sub>2</sub>); コーンガス 50 L/h(N<sub>2</sub>); コリジョンガス Ar; コリジョンエネルギー 5 eV; スキャン範囲 *m/z* 50~1000; リファレンス(ロックマス)ロイシン-エンケファリン; 分解能 >30,000 FWHM (*m/z* 556.2766); 定量イオン 表 1 に示した。

#### (2) LC 条件

カラム Inertsil ODS-4(内径 2.1 mm、長さ 100

mm、粒子径 2 μm、ジーエルサイエンス社製); カラム温度 40°C; 注入量 3 μL; 移動相 0.1 v/v%ギ酸溶液(A 液)及び 0.1 v/v%ギ酸・アセトニトリル溶液(B 液); 流速 0.30 mL/min; グラジエント条件 0 分(A:B=99:1)→14 分(A:B=0:100)→20 分(A:B=0:100)→20.01 分(A:B=99:1); 保持時間 表 1 に示した。

### 4. 検量線

混合標準溶液(0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 μg/mL)をアセトニトリル/水(20:80)で調製し、それぞれ 3 μL を LC-TOF-MS に注入して、ピーク面積法で検量線を作成した。

## II. LC-TOF-MS 法による残留農薬一斉分析法の妥当性評価

### 1. 試料

神奈川県内の小売店で購入した玄米及び大豆を遠心粉碎機で粉碎して、425 μm の標準網ふるいに通したのものを用いた。

### 2. 試薬及び試液

#### (1) 有機溶媒及び試薬

試験溶液の調製に用いたアセトニトリル、トルエン及びメタノールは関東化学(株)製の残留農薬試験用試薬、水は超高純度蒸留水精製装置で蒸留したものを用いた。移動相溶媒は、関東化学(株)製の LC-MS 用蒸留水及びメタノールを用いた。

塩化ナトリウムは、和光純薬工業(株)製の残留農薬試験用試薬を用いた。酢酸アンモニウム、リン酸水素二カリウム及びリン酸二水素カリウムは、和光純薬工業(株)製の特級を用いた。ろ紙は桐山製作所製 No.5B、ケイソウ土は和光純薬工業(株)製のセライト 545 を用いた。

リファレンス(ロックマス)用試薬は、ロイシン-エンケファリン酢酸塩水和物(Sigma-Aldrich 社製)を水及びメタノール(1:1)混液に溶解したものを用いた。

#### (2) 標準品及び標準溶液

検討には、表 2 に示した 151 農薬を用いた。各標準品は、林純薬工業(株)、関東化学(株)、

和光純薬工業(株)、Sigma-Aldrich 社、Dr. Ehrenstorfers 社、Riedel-de Haën 社及び AccuStandard 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、アセトニトリル(アセトニトリルへの溶解性が低い場合はメタノール)10 mL に溶解して調製した。アラマイトは、AccuStandard 社製の標準溶液(2 mg/mL)を用いた。添加回収試験用の混合標準溶液は、各農薬の標準原液を混合し、アセトニトリル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、添加回収試験用の混合標準溶液をメタノールで適宜希釈して用時調製した。

### (3) 精製ミニカラム

オクタデシルシリル化シリカゲル(ODS)ミニカラムは、Agilent 社製 Mega Bond Elut C18(充てん量 1000 mg)を用いた。グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル(PSA)積層ミニカラムは、ジューエルサイエンス社製の InertSep GC/PSA(充てん量 500 mg/500 mg)を用いた。

### (4) 0.5 mol/L リン酸緩衝液(pH7.0)の調製

リン酸水素二カリウム( $K_2HPO_4$ ) 52.7 g 及びリン酸二水素カリウム( $KH_2PO_4$ ) 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。

## 3. 装置

遠心粉碎機は Retsch 社製 ZM200、ホモジナイザーは Kinematica 社製 Polytron PT 10-35 GT を用いた。LC-TOF-MS は、ACQUITY UPLC I-Class 及び Xevo G2-S QTOF(Waters 社製)を使用した。蒸留水精製装置は、藤原製作所(株)製の超高純度蒸留水精製装置 NZJ-2DSYW を用いた。濃縮装置は東京理化学器械(株)製のロータリーエバポレーター(NVC-2100/DPE-1300/CCA-1111)を使用した。遠心分離機は、(株)久保田製作所製のテーブルトップ多本架遠心機 8100 を用いた。

## 4. 測定条件

### (1) MS 条件

イオン化法 ESI(+); キャピラリー電圧 1000 V; コーン電圧 20 V; ソース温度 120°C; 脱溶媒ガス温度 450°C; 脱溶媒ガス 800 L/h( $N_2$ ); コーンガス 50 L/h( $N_2$ ); コリジョンガス Ar; コリジョンエネルギー 4 eV(低エネルギー)及び 10–40 eV(高エネルギー); スキャン範囲  $m/z$  50~1000; リファレンス(ロックマス) ロイシン-エンケファリン; 分解能 > 30,000 FWHM ( $m/z$  556.2766); 定量イオン表 2 に示した。

### (2) LC 条件

カラム Inertsil ODS-4(内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 2  $\mu$ m、ジューエルサイエンス社製); カラム温度 40°C; 注入量 3  $\mu$ L; 移動相 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液(A 液)及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液(B 液); 流速 0.30 mL/min; グラジエント条件 0 分(A:B=95:5)→10 分(A:B=5:95)→13 分(A:B=5:95)→13.01 分(A:B=0:100)→18 分(A:B=0:100)→18.01 分(A:B=95:5); 保持時間 表 2 に示した。

## 5. 試験溶液の調製

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)の穀類、豆類及び種実類の場合において、以下の点を変更した以外は試験法に従って試験溶液を調製した。

①塩析の際、振とう後、遠心分離(毎分 3000 回転、5 分間)を行った。

②ODS ミニカラム精製の溶出溶媒量を 5 mL とした。

③グラファイトカーボン/ $NH_2$  積層ミニカラム精製をグラファイトカーボン/PSA 積層ミニカラム精製に変更した。

### (1) 抽出

試料 10.0 g を量り採り、水 20 mL を加えて 30 分間放置した。これにアセトニトリル 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 を採り、塩化ナトリウム 10 g 及び 0.5 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0) 20 mL を加えて 10 分間振とう後、遠心分離 (毎分 3000 回転、5 分間) を行った。

ODS ミニカラムにアセトニトリル 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに上記のアセトニトリル層を注入し、さらにアセトニトリル 5 mL を注入した。全溶出液を採り、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、残留物をアセトニトリルトルエン (3:1) 2 mL に溶解した。

## (2) 精製

グラファイトカーボン/PSA 積層ミニカラム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 (1) で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 (うち 2 mL で 3 回答器を洗浄した) を注入した。全溶出液を採り、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、メタノール 4 mL に溶解して試験溶液 (試料 0.5 g/mL) とした。

## 6. 妥当性評価試験

玄米及び大豆について添加濃度 0.01 ppm で 1 日 2 併行、5 日間の添加回収試験を行った。試験溶液は、添加回収試験用混合標準溶液 (0.1 µg/mL) 1 mL を試料 10.0 g に添加してよく混合し、30 分間放置した後、『5. 試験溶液の調製』に従って調製した。

## 7. 定量

添加回収試験における回収率 25、50、75、100、125 及び 150% 相当濃度の標準溶液をメタノールで調製し、それぞれ 3 µL を LC-TOF-MS に注入して、ピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 3 µL を LC-TOF-MS に注入し、検量線から絶対検量線法により濃度を求めた。なお、フェリムゾンの異性体 (E 体及び Z 体) は合

算して定量を行った。

## 8. マトリックス添加標準溶液の調製

ブランク試験溶液 100 µL をバイアルに採り、窒素気流により溶媒を除去した後、残留物を 0.005 µg/mL の混合標準溶液 100 µL に溶解してマトリックス添加標準溶液とした。溶媒標準溶液とマトリックス添加標準溶液を測定し、溶媒標準溶液のピーク面積に対するマトリックス添加標準溶液のピーク面積の比を求めて試料マトリックスの測定への影響を評価した。

## C. 研究結果及び考察

### 1. LC-TOF-MS 法による残留動物用医薬品分析の検討

#### 1. LC-TOF-MS 測定条件の最適化

動物用医薬品の一斉分析に適した測定条件とするため、キャピラリー電圧、コーン電圧、コリジョンエネルギー、脱溶媒ガス流量、脱溶媒温度、注入溶媒及び注入量について検討した。検討化合物は表 1 に示した 89 化合物を用いた。

#### (1) キャピラリー電圧

まず、キャピラリー電圧について 500~3500 V の範囲で検討した。図 1 に代表的な 10 化合物の結果を示した。その結果、clostebol 等の一部の化合物では 2000~3000 V でピーク面積が最大となったものの、検討化合物の約 8 割は 500~1000 V でピーク面積が最大となり、電圧を高くするとピーク面積が低下した。この結果から 1000 V に設定することとした。なお、得られた条件は、平成 25 年度に農薬を用いて検討したときと同じ結果が得られた。

#### (2) コーン電圧

次に、コーン電圧について 10~120 V の範囲で検討した。代表的な 10 化合物の結果を図 2 に示した。その結果、10~80 V では検討化合物のほとんどでピーク面積に大きな差は認められず、100 V 以上では大幅にピーク面積が低下した。一部の化合物では 40 V 以上で若干、ピーク面積が低下したことから、20 V に設定することとした。なお、得られた条件は、平成 25 年度に農

薬について検討したときと同じ結果が得られた。

### (3) コリジョンエネルギー

定量イオン ( $[M+H]^+$  や  $[M+Na]^+$ ) を測定する際のコリジョンエネルギーについて 0~50 eV の範囲で検討した (図 3)。その結果、検討化合物の大部分は 4~10 eV でピーク面積が最大となり、12 eV 以上で低下した。フラグメンテーションを起こしやすい化合物は 8 eV 以上で大幅にピーク面積が低下した。また、4 eV 未満にすると、検討した全ての化合物のピーク面積が低下した。これらの結果から、5 eV に設定することとした。平成 25 年度に実施した農薬を用いた検討では、4 eV を選択しており、ほぼ同じ結果が得られた。動物用医薬品では 4 eV 未満では面積が減少するのに対して、農薬では一部の農薬を除き 0~8 eV でピーク面積が最大となったことから、農薬と動物用医薬品の同時測定を行う場合には、5 eV を用いると良いと推察された。

### (4) 脱溶媒ガス流量

脱溶媒ガス ( $N_2$ ) 流量について 700~1100 L/h の範囲で検討した。代表的な 10 化合物の結果を図 4 に示した。その結果、検討した流量範囲では、検討したほとんどの化合物でピーク面積に顕著な差は認められなかったが、cefoperazone 等の一部の化合物では流量を高くするとピーク面積が低下したことから、800 L/h に設定することとした。なお、得られた条件は、平成 25 年度に農薬について検討したときに用いた条件と同じであった。

### (5) 脱溶媒温度

脱溶媒温度について、350~550°C の範囲で検討を行った。図 5 に代表的な 10 化合物の結果を示した。温度を高くするとピーク面積が大きくなる化合物が多かったものの、cefoperazone や valnemulin 等の一部の化合物ではピーク面積が低下したことから、450°C に設定することとした。なお、得られた条件は、平成 25 年度に農薬について検討したときに用いた条件と同じであった。

### (6) 注入溶媒及び注入量

LC への注入溶媒の有機溶媒比率が高い場

合や注入量が多い場合、高極性化合物のピーク形状が悪くなることがある。そこで、注入溶媒アセトニトリル、アセトニトリル/水 (50:50)、アセトニトリル/水 (40:60)、アセトニトリル/水 (30:70)、アセトニトリル/水 (25:75) 及びアセトニトリル/水 (20:80)、注入量 1、2、3  $\mu$ L での各化合物のピーク形状を比較した。図 6-1 に dicyclanil、図 6-2 に lincomycin、図 6-3 に olaquinox、図 6-4 に sulfaguanidine の抽出イオンクロマトグラム (注入量 3  $\mu$ L) を示した。注入量 3  $\mu$ L の場合、アセトニトリル/水 (50:50) では、検討した 89 化合物のうち 14 化合物 (danofloxacin、diaveridine、dicyclanil、enrofloxacin、5-hydroxythiabendazole、levamisole、lincomycin、ofloxacin、olaquinox、ormetoprim、robenidine、sulfaguanidine、trimethoprim 及び xylazine) のピーク形状が悪かった。アセトニトリル/水 (20:80) では sulfaguanidine でブロードのピークが得られたものの、その他の化合物では良好なピーク形状が得られた。アセトニトリル/水 (25:75) では dicyclanil 及び sulfaguanidine、アセトニトリル/水 (30:70) では dicyclanil、sulfaguanidine 及び olaquinox でピークが割れたものの、その他の化合物については良好なピーク形状が得られた。注入量 2  $\mu$ L においては、アセトニトリル/水 (20:80) 及びアセトニトリル/水 (25:75)、1  $\mu$ L においては、アセトニトリル/水 (20:80)、アセトニトリル/水 (25:75) 及びアセトニトリル/水 (30:70) で検討した全ての化合物で良好なピーク形状が得られた。注入量を減らすと検出感度が低下してしまうことから、本研究では注入溶媒をアセトニトリル/水 (20:80)、注入量を 3  $\mu$ L とすることとした。なお、注入量は、平成 25 年度に農薬について検討したときに用いた条件と同じであった。注入溶媒については、農薬は動物用医薬品と比較してやや極性が低く、水への溶解性が低い化合物が多いため、平成 25 年度の農薬の検討ではメタノールを用いたが、高極性農薬と動物用医薬品を同時に測定する場合はアセトニトリル/水混液を用いるのが良いと考えられた。

## 2. 抽出質量幅の設定及び繰り返し測定におけるピーク面積の再現性

『1. LC-TOF-MS 測定条件の最適化』で確立した条件で、0.1 µg/mL の標準溶液を5回繰り返し測定し、抽出質量幅を5、10、20 mDa に設定した場合のピーク面積の再現性を求めた(図 7)。抽出質量幅 5 mDa では、検討した 89 化合物中 20 化合物(約 22%)で RSD5%以上となった。一方、10 mDa 及び 20 mDa では、RSD5%以上となった化合物はそれぞれ 5 化合物(約 6%)及び 6 化合物(約 7%)であり、10 mDa と 20 mDa ではピーク面積の再現性に大きな差は認められなかった。この結果から、抽出質量幅は 10 mDa に設定することとした。なお、得られた条件は、平成 25 年度に農薬について検討したときと同じ結果が得られた。

## 3. 検量線

標準溶液(0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 µg/mL)を調製し、それぞれ 3 µL を LC-TOF-MS に注入して、ピーク面積法で検量線を作成した。その結果、89 化合物のうち、6 化合物(azaperone、diaveridine、tripeleppamine、mafoprazine、monensin 及び robenidine)を除く、83 化合物が 0.005 ~ 0.2 µg/mL の範囲(cefoperazone、cefuroxime、nicarbazine 及び phenoxymethylpenicillin は 0.01~0.2 µg/mL、2-acetylaminio-5-nitrothiazole、allethrin、sulfacetamid 及び thiamphenicol は 0.02~0.2 µg/mL、nitarsona は 0.05 ~ 0.2 µg/mL、chlorhexidine は 0.1~0.2 µg/mL)で  $r \geq 0.995$  となり、良好な直線性が得られた。azaperone、diaveridine、tripeleppamine、mafoprazine、monensin 及び robenidine は 0.2 µg/mL 以上では検出器において飽和し、直線性が低下したものと考えられた。0.005~0.1 µg/mL の範囲では、azaperone、diaveridine、tripeleppamine、mafoprazine、monensin 及び robenidine についても  $r \geq 0.995$  となり、良好な直線性が得られた。

## II. LC-TOF-MS 法による残留農薬一斉分析法の妥当性評価

平成 25 年度に求めた残留農薬一斉分析に適した LC-TOF-MS 測定条件を用いて、玄米及び大豆を対象に添加濃度 0.01 ppm で 1 日 2 併行、5 日間の添加回収試験を行った。真度及び精度の結果を表 3-1 及び 3-2、代表的なクロマトグラムを図 8-1 及び 8-2 に示した。検討した 151 農薬のうち、玄米及び大豆いずれも 5 農薬(hexaconazole、isoprocarb、methidathion、pentoxazone 及び quizalofop ethyl)で十分な測定感度が得られなかった。玄米では、感度が得られなかった 5 農薬及び試料中に残留が認められた 2 農薬(ferimzone、tricyclazole)を除いた 144 農薬のうち、136 農薬(約 94%)で妥当性評価ガイドラインの真度及び精度の目標値(真度 70~120%、併行精度 RSD 25%未満、室内精度 RSD 30%未満)を満たした。一方、大豆では感度が得られた 146 農薬のうち 136 農薬(約 93%)で真度及び精度の目標値を満たした。また、玄米及び大豆いずれも定量を妨害するピークは認められなかったか、認められても 0.01 ppm(定量限界)に相当するピーク面積の 1/3 未満であり、選択性に問題はなかった。試料マトリックスの測定への影響を表 4-1 及び 4-2 に示した。溶媒標準溶液のピーク面積に対するマトリックス添加標準溶液のピーク面積の比を求めたところ、玄米及び大豆いずれも、検討農薬の 9 割以上で 0.8 ~ 1.1 となり、大きな影響は認められなかった。玄米中の cycloprothrin、epoxiconazole、fenprothrin、fipronil、fluvalinate 及び spinosyn A、大豆中の fluvalinate は試料マトリックスによるイオン化阻害が真度の低い主な原因と考えられた。

なお、用いた玄米試料中に残留が認められた 2 農薬(ferimzone、tricyclazole)はいずれも基準値未満であった。

## D. 結論

### I. LC-TOF-MS 法による残留動物用医薬品分



## 析の検討

動物用医薬品 89 化合物を用いて、TOF-MS 測定条件(キャピラリー電圧、コーン電圧、コリジョンエネルギー、脱溶媒ガス流量、脱溶媒温度)、LC 条件(注入溶媒及び注入量)及び定量解析条件(抽出質量幅)を検討した。確立した測定条件で、ピーク面積の再現性及び検量線の直線性について評価したところ、検討化合物の 9 割以上で良好な結果が得られた。今後、一斉分析への適用性について検討を行う予定である。

## II. LC-TOF-MS 法による残留農薬一斉分析法の妥当性評価

LC-TOF-MS 法の残留農薬一斉分析への適用性について検討するため、玄米及び大豆を用いて添加濃度 0.01 ppm で 1 日 2 併行、5 日間の添加回収試験を行った結果、検討農薬の 9 割以上で妥当性評価ガイドラインの真度及び精度の目標値を満たした。また、いずれも選択性に問題はなかった。これらの結果から、一律基準レベルにおいて、LC-TOF-MS 法を残留農薬一斉分析(農産物:穀類・豆類)へ適用可能であることが示された。今後、基準値濃度においても妥当性が示されれば、LC-TOF-MS 法を基準値判定

にも用いることが可能であると考えられる。

## 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 を用いた茶中の残留農薬一斉分析法～厚生労働省通知一斉試験法の改良～、日本食品化学学会誌、**21**、27-36(2014)

Saito-Shida, S., Nemoto, S., and Matsuda, R., Multiresidue analysis of pesticides in vegetables and fruits by supercritical fluid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Hygiene and Safety Science*, **55**, 142-151 (2014).

### 2. 学会発表

志田(齊藤)静夏、根本 了、手島玲子:GC-MS/MS を用いた茶中の残留農薬一斉分析法の検討、日本食品化学学会第 20 回総会・学術大会(2014.5)

## F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 検討化合物の保持時間及び定量イオン

	化合物	組成式	定量イオン	計算精密質量 ( <i>m/z</i> )	保持時間 (分)
1	2-Acetylamino-5-nitrothiazole	C <sub>9</sub> H <sub>5</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	188.0124	5.5
2	Albendazole	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	266.0958	6.7
3	Allethrin	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	303.1955	12.0
4	Altrenogest	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	311.2006	9.3
5	Azaperone	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> FN <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	328.1820	4.5
6	Benzocaine	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	166.0863	6.7
7	<i>N,N'</i> -Bis(2-methoxy-4-nitrophenyl)urea	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	303.0724	6.3
8	Bromacil	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> BrN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	261.0233	6.6
9	Brotizolam	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> BrClN <sub>4</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	392.9571	7.9
10	Cefoperazone	C <sub>25</sub> H <sub>27</sub> N <sub>9</sub> O <sub>8</sub> S <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	646.1497	5.1
11	Cefuroxime	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub> S	[M+Na] <sup>+</sup>	447.0581	4.7
12	Chlorhexidine	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>10</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	505.2105	5.9
13	Clostebol	C <sub>19</sub> H <sub>27</sub> ClO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	323.1772	9.4
14	Danofloxacin	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	358.1561	4.2
15	Diaveridine	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	261.1346	3.7
16	Dicyclanil	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	191.1040	2.6
17	Difloxacin	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	400.1467	4.8
18	Diflubenzuron	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> ClF <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	311.0393	9.8
19	Emamectin B1a	C <sub>49</sub> H <sub>75</sub> NO <sub>13</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	886.5311	9.8
20	Enrofloxacin	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	360.1718	4.4
21	Eprinomectin B1a	C <sub>50</sub> H <sub>75</sub> NO <sub>14</sub>	[M+Na] <sup>+</sup>	936.5080	12.0
22	Erythromycin A	C <sub>37</sub> H <sub>67</sub> NO <sub>13</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	734.4685	6.3
23	Ethopabate	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	238.1074	6.2
24	Famphur	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> NO <sub>5</sub> PS <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	326.0280	9.0
25	Fenobucarb	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	208.1332	8.9
26	Flubendazole	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	314.0935	7.0
27	Flumequine	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	262.0874	7.2
28	Flunixin	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	297.0845	8.4
29	Halofuginone	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> BrClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	414.0215	5.4
30	Hydrocortisone	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	363.2166	6.3
31	5-Hydroxythiabendazole	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> OS	[M+H] <sup>+</sup>	218.0383	3.3
32	Josamycin	C <sub>42</sub> H <sub>69</sub> NO <sub>15</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	828.4740	7.8
33	Ketoprofen	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	255.1016	8.2
34	Lasalocid A	C <sub>34</sub> H <sub>54</sub> O <sub>8</sub>	[M+Na] <sup>+</sup>	613.3711	13.6
35	Levamisole	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	205.0794	3.6
36	Lincomycin	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	407.2210	3.4
37	Mafoprozine	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	402.2187	5.5
38	Marbofloxacin	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> FN <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	363.1463	3.9
39	Mebendazole	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	296.1030	6.7
40	Mecillinum	C <sub>15</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	326.1533	4.3
41	Meloxicam	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	352.0420	8.5
42	Menbutone	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	259.0965	7.9
43	Methylprednisolone	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	375.2166	6.9
44	Monensin	C <sub>36</sub> H <sub>62</sub> O <sub>11</sub>	[M+Na] <sup>+</sup>	693.4184	14.3
45	Morantel	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	221.1107	5.0

表 1 (つづき)

	化合物	組成式	定量イオン	計算精密質量 ( <i>m/z</i> )	保持時間 (分)
46	Nafcillin	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	415.1322	8.2
47	Nalidixic acid	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	233.0921	7.0
48	Nitarson	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> AsNO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	247.9535	3.2
49	Ofloxacin	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	362.1511	4.0
50	Olaquinox	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	264.0979	2.8
51	Orbifloxacin	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	396.1530	4.5
52	Ormetoprim	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	275.1503	4.1
53	Oxibendazole	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	250.1186	5.5
54	Oxolinic acid	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	262.0710	5.9
55	Phenoxymethylpenicillin	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	351.1009	7.1
56	Prednisolone	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	361.2010	6.2
57	Pyrantel	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	207.0950	4.2
58	Pyrimethamine	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	249.0902	5.4
59	Rifaximin	C <sub>43</sub> H <sub>51</sub> N <sub>3</sub> O <sub>11</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	786.3596	9.3
60	Robenidine	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	334.0621	8.1
61	Sarafloxacin	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	386.1311	4.7
62	Sulfabenzamide	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	277.0641	6.2
63	Sulfacetamide	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	215.0485	3.3
64	Sulfachlorpyridazine	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> ClN <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	285.0208	5.2
65	Sulfadiazine	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	251.0597	3.6
66	Sulfadimethoxine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	311.0809	6.3
67	Sulfadimidine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	279.0910	4.6
68	Sulfadoxine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	311.0809	5.5
69	Sulfaethoxypyridazine	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	295.0859	5.5
70	Sulfaguanidine	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	215.0597	2.0
71	Sulfamerazine	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	265.0754	4.1
72	Sulfamethoxazole	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	254.0594	5.5
73	Sulfamethoxypyridazine	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	281.0703	4.6
74	Sulfamonomethoxine	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	281.0703	5.0
75	Sulfapyridine	C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	250.0645	3.9
76	Sulfaquinoxaline	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	301.0754	6.3
77	Sulfathiazole	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	256.0209	3.8
78	Temephos	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub> P <sub>2</sub> S <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	466.9970	12.2
79	Thiabendazole	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	202.0433	3.7
80	Thiamphenicol	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>5</sub> S	[M+Na] <sup>+</sup>	377.9940	4.3
81	Tiamulin	C <sub>28</sub> H <sub>47</sub> NO <sub>4</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	494.3299	7.0
82	Tolfenamic acid	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> ClNO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	262.0629	10.7
83	β-Trenbolone	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	271.1693	7.6
84	Trimethoprim	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	291.1452	3.9
85	Tripelennamine	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	256.1808	5.1
86	Tylosin	C <sub>46</sub> H <sub>77</sub> NO <sub>17</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	916.5264	6.6
87	Valnemulin	C <sub>31</sub> H <sub>52</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	565.3670	7.4
88	Warfarin	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	309.1121	8.9
89	Xylazine	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	221.1107	4.7

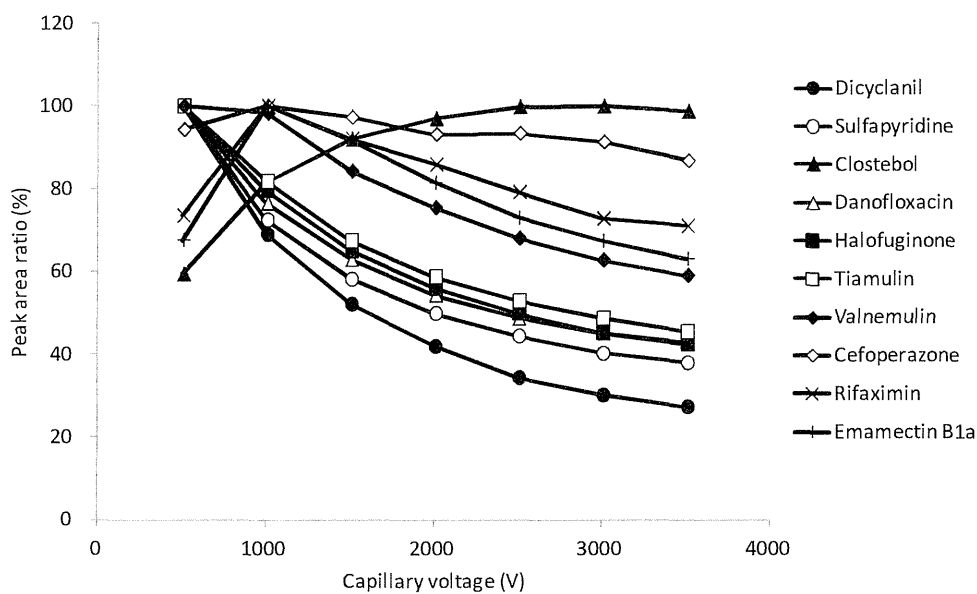


図1 各化合物のピーク面積に対するキャピラリー電圧の影響

ピーク面積の最大値を100%として示した。各条件2回測定し、平均値を示した。  
 コーン電圧 20 V、コリジョンエネルギー 5 eV

dicyclanil ( $[M+H]^+$ ,  $m/z$  191.1040)、sulfapyridine ( $[M+H]^+$ ,  $m/z$  250.0645)、altrenogest ( $[M+H]^+$ ,  $m/z$  311.2006)、danofloxacin ( $[M+H]^+$ ,  $m/z$  358.1561)、halofuginone ( $[M+H]^+$ ,  $m/z$  414.0215)、tiamulin ( $[M+H]^+$ ,  $m/z$  494.3299)、valnemulin ( $[M+H]^+$ ,  $m/z$  565.3670)、cefoperazone ( $[M+H]^+$ ,  $m/z$  646.1497)、rifaximin ( $[M+H]^+$ ,  $m/z$  786.3596)、emamectin B1a ( $[M+H]^+$ ,  $m/z$  886.5311)