

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安全性確保に関する研究

平成 25 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 26(2014)年 5 月

目 次

| | |
|---|----|
| . 総括研究報告 | |
| 食品中残留農薬等の安全性確保に関する研究 ----- | 1 |
| 根本 了 | |
| . 分担研究報告 | |
| 1. 精確な定量法の確立 | |
| 1) 安定同位体標識標準品による内標準法を用いた精確な定量法の検討 ----- | 11 |
| 坂井隆敏 | |
| 2) 標準添加法を用いた精確な定量法の検討 ----- | 31 |
| 齊藤静夏 | |
| 2. 効率的・網羅的な分析法の開発 ----- | 43 |
| 齊藤静夏 | |
| 根本 了 | |
| . 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- | 75 |
| . 研究成果の刊行物・別刷 ----- | 79 |

I. 総括研究報告

食品中残留農薬等の安全性確保に関する研究

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 25 年度 総括研究報告書

食品中残留農薬等の安全性確保に関する研究

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(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 品目を超える農薬等に基準値が設定されている。食品の安全性確保のためには、膨大な数の残留農薬等を分析し、精確かつ効率的に分析値を求める必要がある。しかし、食品マトリックスの影響により精確な分析値を得ることが困難な場合がある。その際には安定同位体標識標準品(「安定同位体」と略す。)を用いた内標準法や標準添加法による定量法が提案されているが、その標準的使用法及び評価基準は示されていない。また、現在汎用されている GC-MS(/MS) や LC-MS(/MS) では設定した化合物しか検出できず、かつ装置の制約により何百もの化合物を同時に測定するのは困難である。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が、残留農薬等検査への適用例は非常に少ない。そこで本研究では、残留分析に適した「精確な定量法の確立」及び「効率的・網羅的な分析法の開発」の 2 つの課題について検討を行った。

1. 精確な定量法の確立

1) 安定同位体標識標準品による内標準法を用いた精確な定量法の検討

食品中残留農薬等分析における安定同位体標識標準品を用いた内標準法の標準的使用法及び評価基準を確立することを目的として、先ず、検討対象農薬等及び対応する安定同位体を LC-MS/MS で測定した。得られた結果を基に、安定同位体の種類や数、測定条件など、分析値に影響を及ぼす可能性がある因子について基礎的考察を行った。

2) 標準添加法を用いた精確な定量法の検討

残留農薬分析に適した標準添加法を用いた精確な定量法の検討においては、大豆マトリックス標準溶液を用いて検量点数や添加濃度の定量精度に与える影響について評価した。その結果、初期濃度に近い 1 点を複数回繰り返し測定した場合の方が、多数の検量点を用いた場合よりも良好な結果が得られた。

2. 効率的・網羅的な分析法の開発

飛行時間型質量分析計(LC-(Q)TOF-MS、GC-TOF-MS)を用いた効率的・網羅的な分析法の検討を行った。LC-(Q)TOF-MS 法の検討では、残留農薬分析に適した測定条件及び定量解析条件を確立し、フラグメントイオンによる確認方法についても検討した。151 農薬を用いてピーク面積の再現性や検量線の直線性について評価したところ、9 割以上で良好な結果が得られた。GC-TOF-MS 法の検討では、ほうれんそう及び玄米のマトリックス標準溶液を用いて定量条件を確立した。184 農薬について定量性、選択性、検出限界、検量線の直線性について評価したところ、検討農薬の約 9 割で良好な結果が得られた。

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)

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の導入に伴い、現在約 800 品目を超える農薬等に基準値が設定されている。食品の安全性確保のためには、膨大な数の残留農薬等を分析し、精確かつ効率的に分析値を求める必要がある。

そこで本研究では、残留分析に適した「精確な定量法の確立」及び「効率的・網羅的な分析法の開発」の 2 つの課題について検討した。

(1) 精確な定量法の確立

分析する食品は多種多様であり、農薬等の中には測定の際に食品由来の夾雑成分の影響を受け易いものや、分析操作中に分解・揮散するものなどもあり、精確な分析値を求めることが困難な場合がある。このような場合に、時間と手間を要する追加精製や分解等の防止処理などの検討を行うことなく、効率的に精確な分析値を求める手法として、安定同位体標識標準品(安定同位体と略す。)を用いた内標準法や標準添加法による定量法が提案されている。しかしながら、現状ではこれら手法を使用するための標準的な方法や評価基準などは示されておらず、また、どの程度まで精確な分析値が得られるかなどの詳細な情報はほとんど無い。

本研究では、1) 安定同位体による内標準法を用いた精確な定量法及び 2) 標準添加法を用いた精確な定量法について、食品中残留農薬

等分析に適用するための標準的使用方法及び評価方法の確立について検討する。

平成 25 年度は、安定同位体による内標準法を用いた精確な定量法の検討では、検討対象化合物を液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)で測定し、安定同位体の標識同位体の種類や数、測定条件など、内標準法を適用する上で精確な定量に影響を及ぼす可能性がある因子について考察した。標準添加法を用いた精確な定量法の検討では、マトリックス標準溶液を用いて検量点数や添加濃度の定量精度に与える影響について検討した。

(2) 効率的・網羅的な分析法の開発

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、化合物ごとに測定イオンや MS パラメーターを設定する必要があり、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。これに対して、飛行時間型質量分析計(TOFMS)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、TOFMS を用いた方法(LC-(Q)TOF-MS 法及び GC-TOF-MS 法)を残留農薬分析に適用するため、平成 25 年度は残留農薬一斉分析に適した LC-(Q)TOF-MS 及び GC-TOF-MS の測定条件及び定量解析条件を確立し、定量性や選択性等について評価した。

B. 研究方法

(1) 精確な定量法の確立

1) 安定同位体による内標準法を用いた精確な定量法

平成 25 年度は、検討対象農薬等として選択したスルファジアジン (SDZ)、スルファメトキサゾール (SMXZ)、チアベンダゾール (TBZ) 及びトリメトプリム (TMP)、並びにこれらの重水素 (d) 標識及び炭素 13 (^{13}C) 標識安定同位体である SDZ- d_4 、SDZ- $^{13}\text{C}_6$ 、SMXZ- d_4 、SMXZ- $^{13}\text{C}_6$ 、TBZ- d_6 、TBZ- $^{13}\text{C}_6$ 、TMP- d_3 、TMP- $^{13}\text{C}_3$ 及び TMP- d_9 について液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) を用いて測定した。得られた測定結果から、安定同位体の標識同位体の種類や数、測定条件など、安定同位体による内標準法を適用する上で精確な定量に影響を及ぼす可能性のある因子について考察した。

2) 標準添加法を用いた精確な定量法

通知「農薬等の GC-MS 一斉試験法」を一部変更した方法を用いて、大豆マトリックス標準溶液 [0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (試料中濃度 0.01 ppm 相当)] を調製した。これを用いて標準添加法における検量点を 5 点 (分析対象化合物の添加量として 0.5、1、1.5、2 及び 3 倍量) 調製し、それぞれ 3 回測定して初期濃度を推定し、検量点数や添加濃度の定量精度に与える影響について検討した。

(2) 効率的・網羅的な分析法の開発

1) LC-QTOF-MS 法の検討

残留農薬の一斉分析に適した TOF-MS 条件 (キャピラリー電圧、コーン電圧及びコリジョンエネルギー) の最適化を、分子量約 200 から 700 の 6 農薬を用いて行った。キャピラリー電圧は 500 ~ 3000 V の範囲 (コーン電圧 20 V 及びコリジョンエネルギー 4 eV) について、コーン電圧は 10 ~ 120 V の範囲 (キャピラリー電圧 1000 V 及びコリジョンエネルギー 4 eV) について、コリジョンエネルギーは 0 ~ 50 V の範囲 (キャピラリー電

圧 1000 V 及びコーン電圧 20 V) について検討した。

LC-QTOF-MS 法を用いた確認方法として、フラグメントイオン及び同位体イオンによる確認方法について、151 農薬を対象に標準溶液 [0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (試料中濃度 0.01 ppm 相当)] を用いて検討した。フラグメントイオンによる確認方法の検討では、確認に有効なフラグメントイオンを得るのに適したコリジョンエネルギーについても検討した。

残留農薬の一斉分析に適した抽出質量幅を検討するために、溶媒標準溶液 (0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を 5 回繰り返し測定し、抽出質量幅を 2、5、10 及び 20 mDa に設定してピーク面積の変動を比較した。また、抽出質量幅の選択性に対する影響を評価するために、通知「農薬等の LC-MS 一斉試験法」を一部変更した方法を用いて、キャベツマトリックス標準溶液 (試料中濃度 0.01 ppm 相当) を調製し、151 農薬を対象に妨害ピークの状態を検討した。また、検量線について、151 農薬を対象に、0.001 ~ 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度範囲の標準溶液を測定して評価した。

2) GC-TOF-MS 法の検討

184 農薬を対象に、通知「農薬等の GC-MS 一斉試験法」を一部変更した方法を用いて、ほうれんそう及び玄米のマトリックス標準溶液 (試料中濃度 0.005 ppm 及び 0.05 ppm 相当) を調製し、5 回繰り返し測定して、抽出質量幅 (10、20、50 及び 100 mDa) のピーク面積の変動及び選択性に対する影響を検討した。また、試料中濃度 0.005 ppm (低感度の農薬は 0.05 ppm) 相当のマトリックス標準溶液を 5 回測定し、抽出質量幅を 50 mDa に設定してピーク面積を求め、3 値から検出限界 (LOD) 濃度を算出した。また、検量線について、高濃度 (0.025 ~ 0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 及び低濃度 (0.0025 ~ 0.015 $\mu\text{g}/\text{mL}$) の標準溶液を測

定して評価した。

(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) 精確な定量法の確立

1) 安定同位体による内標準法を用いた精確な定量法

検討対象農薬等と対応する安定同位体の保持時間について

設定した LC-MS/MS 測定条件下で各検討対象農薬等及び対応する安定同位体を測定した結果、若干ではあるが、検討対象農薬等と対応する安定同位体では異なる保持時間が得られた。安定同位体の方が農薬等よりも若干保持時間が短く、また、安定同位体の標識数の増加に伴い、保持時間はより短くなることが予想された。更に、¹³C 標識安定同位体よりも d 標識安定同位体の方が、保持時間の変動に対する寄与が大きいたことが推察された。

また、アセトニトリル比率の勾配の異なるグラジエント条件で測定した結果、グラジエントにおけるアセトニトリル比率の勾配の増加に伴い、検討対象農薬等と対応する安定同位体の保持時間の差はある程度まで小さくなる傾向があることが確認された。

検討対象農薬等のピーク面積値に及ぼす安定同位体中の不純物の影響について

添加する安定同位体中に標識されていない化合物、すなわち分析対象となる農薬等そのものが含まれていれば、最終的に得られる分析対象農薬等の分析値は、実際の値よりも高い値となる。そこで、本研究で使用した検討対象農薬等及び対応する安定同位体をそれぞれ測定し、

得られたピーク面積値について考察した。

本研究で使用した安定同位体では、高濃度 (1 µg/mL) の溶液を測定した場合においても、検討対象農薬等の測定イオンに由来するピークは小さく、使用した安定同位体中には、標識されていない化合物、すなわち検討対象農薬等そのものはほとんど含まれていないことが確認された。

2) 標準添加法を用いた精確な定量法

検量点が 5 点の場合は、検討した 23 化合物はいずれも、決定係数が $r^2 > 0.99$ となり、良好な直線性が得られたが、本回帰式から求めた初期濃度は期待値 (10 ng/mL) よりも低い濃度となった。一方、初期量の 3 倍量の分析対象化合物を添加した 1 点で求めた場合の推定濃度は、5 点の回帰式から求めた場合より期待値に近い値となった。更に、初期量と同量の分析対象化合物を添加した 1 点で求めた場合には、より期待値に近似した値が得られた。

(2) 効率的・網羅的な分析法の開発

1) LC-QTOF-MS 法の検討

農薬は様々な構造や分子量を持つことから、農薬ごとに最適な TOF-MS 条件は異なると予想されるが、TOF-MS 測定では化合物ごとに TOF-MS 条件を設定することは困難である。そのため、LC-TOF-MS を用いて残留農薬の一斉分析を行う際には、幅広い農薬に適した代表的な TOF-MS 条件を設定する必要がある。そこで、TOF-MS 条件として、キャピラリー電圧、コーン電圧及びコリジョンエネルギーの 3 種類のパラメーターについて最適化を行った。その結果、最適な値として、キャピラリー電圧 1000 V、コーン電圧 20 V 及びコリジョンエネルギー 4 eV (定量用) が得られた。

LC-QTOF-MS 法を用いた主な確認方法とし

て、フラグメントイオン及び同位体イオンによる確認方法の検討を行った。検討に当たり、フラグメントイオン測定のためのコリジョンエネルギーの最適化を行ったところ、主なフラグメントイオンのピーク面積は 10～40 eV で最大となるものが多かった。

フラグメントイオン及び同位体イオンを用いた確認方法について検討した結果、検討に用いた 151 農薬のうち 90%以上で一律基準相当濃度において、フラグメントイオンまたは同位体イオンを 1 つ以上検出 ($S/N > 10$) することができた。

抽出質量幅は、選択性及び装置の感度に影響するため、最適な抽出質量幅について検討した。その結果、抽出質量幅 5 mDa 以上では検討農薬の大部分で $RSD < 5\%$ となった。また、キャベツのマトリックス標準溶液の検討から、抽出質量幅が狭いほど選択性は高くなったが、1 mDa まで狭めるとピーク形状に劣化が見られた。 S/N 比を指標に定量性及び選択性が良好な抽出質量幅として 10 mDa を選択した。

検量線の検討から、検討した 151 農薬では 0.002 (又は 0.005) $\mu\text{g/mL}$ から 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 以下の濃度範囲では大部分で良好な直線性が得られた。

2) GC-TOF-MS 法の検討

GC-TOF-MS 法の残留農薬一斉分析への適用性を検討するため、溶媒標準溶液及びマトリックス標準溶液を用いて定量性、選択性、検出限界、検量線の直線性について検討した。

抽出質量幅のピーク面積の再現性及び選択性に与える影響について検討した結果、抽出質量幅を 10 mDa または 20 mDa に設定した場合には、いずれの場合も定量を妨害するピークは観測されず、選択性に問題はなかったが、20 mDa の方がピーク面積の再現性がやや良好であった。抽出質量幅を 50 mDa に設定した場合

には一部の農薬で選択性の低下が認められ、100 mDa に設定した場合には、選択性が低下した農薬が増加し、更に 10 または 20 mDa の場合よりノイズレベルが高くなったことにより感度が低下した農薬が増加した。

検出限界濃度は、ほうれんそうで 2 農薬、玄米で 8 農薬を除き、0.01 ppm 未満であった。

検量線は、高濃度範囲 (0.025～0.15 $\mu\text{g/mL}$) では検討した全ての農薬で良好な直線性が得られ、低濃度範囲 (0.0025～0.015 $\mu\text{g/mL}$) でも一部の農薬を除き、良好な直線性が得られた。

D. 考察

(1) 精確な定量法の確立

1) 安定同位体による内標準法を用いた精確な定量法

検討対象農薬等と対応する安定同位体の保持時間について

設定した LC-MS/MS 測定条件において各検討対象農薬等及び対応する安定同位体を測定した結果、若干ではあるが、検討対象農薬等よりも、対応する安定同位体の方が保持時間が短いことが確認された。また、安定同位体の標識数の増加に伴い、保持時間はより短くなる傾向が確認された。更に、 ^{13}C 標識安定同位体よりも d 標識安定同位体の方が保持時間が短くなる傾向が確認された。

また、グラジエントにおけるアセトニトリル比率の勾配の増加に伴い、検討対象農薬等と対応する安定同位体の保持時間の差が小さくなる傾向が確認された。

これらの結果から、使用する安定同位体の標識の種類や標識数、使用する LC 条件によっては、分析対象である農薬等と対応する安定同位体の保持時間が大きく異なる可能性があることが示唆された。

分析対象である農薬等と対応する安定同位体の保持時間が異なる場合、測定の際に受ける試料マトリックスの影響も異なり、結果として補正の精度に大きく影響する可能性があることが推察された。したがって、次年度においては、実際の食品マトリックスの存在下で測定を行い、検討対象農薬等と対応する安定同位体の保持時間の違いが、正確な補正にどの程度影響するかについて検討する必要があると考えられた。

検討対象農薬等のピーク面積値に及ぼす安定同位体中の不純物の影響について

本研究で使用した検討対象農薬等及び対応する安定同位体の高濃度の標準溶液(1 µg/mL)をそれぞれ測定し、安定同位体中の検討対象農薬等の含有の有無を確認した。その結果、本研究で使用した安定同位体の中で検討対象農薬等そのものに由来するピーク面積値が最も大きかったものは TMP- d_3 であったが、1 µg/mL の TMP 標準溶液の測定で得られたピーク面積値の 0.4%程度であった。その他の安定同位体については、検討対象農薬等そのものに由来するピークはほとんど検出されない、もしくは検出された場合であっても 1 µg/mL の検討対象農薬等標準溶液の測定で得られたピーク面積値の 0.1%未満であった。

仮に、本研究で使用した TMP- d_3 を用いた内標準法で TMP の分析を行い、1 µg/g 相当の TMP- d_3 を添加したとすると、検体中の実際の TMP 濃度が 10 ng/g であった場合には、添加した TMP- d_3 由来の TMP が加算され、分析値としては 13 ng/g 程度の値が得られることとなる。

したがって、安定同位体による内標準法を使用する場合には、予め、使用する安定同位体中の分析対象農薬等の有無、含まれる場合にはどの程度含まれるかを確認し、検体中の実際の分析対象農薬等の濃度に影響が無い濃度の安定

同位体を添加することが重要であると考えられた。

2) 標準添加法を用いた正確な定量法

標準添加法における検量点数(1~5点)及び添加濃度の定量精度に与える影響について検討した結果、初期濃度に近い1点を複数回繰り返し測定した場合の方が、多数の検量点を用いた場合よりも良好な結果が得られると考えられたことから、今後様々な食品で確認する予定である。

(2) 効率的・網羅的な分析法の開発

1) LC-TOF-MS 法の検討

農薬の分子量範囲を想定して分子量約 200 から 700 の 6 農薬を用いて、キャピラリー電圧、コーン電圧及びコリジョンエネルギーを最適化し、残留農薬の一斉分析に適した TOF-MS 条件を確立した。確認条件の検討から、定量イオンはコリジョンエネルギー 4 eV で測定し、確認のためのフラグメントイオンは 10~40 eV の範囲で走査して測定する条件を見だし、定量イオンとフラグメントイオンを同時に測定することにより、定量と確認を同時に行うことが可能であった。しかしながら、確認のためのフラグメントイオンの測定では、同じ部分構造を有する農薬同士の保持時間が近接していると、フラグメントイオンが重なり、確認が不十分となる場合があったことから、確認の際には、必要に応じてより選択性が高いと考えられる MS/MS 測定等と組み合わせる方がよいと考えられた。

検量線の直線性の範囲は農薬により異なるが、0.1 µg/mL を超える濃度では、検討農薬のほとんどでシグナルが飽和してしまうため、試験溶液を希釈して測定する必要があると考えられた。

2) GC-TOF-MS 法の検討

抽出質量幅のピーク面積の再現性及び選択

性に与える影響についての検討から、ピーク面積の再現性や選択性が良く、且つ、S/N 比も良好であった抽出質量幅 20 ~ 50 mDa を定量に用いるのが良いと考えられた。また、試料中 0.005 ppm 相当濃度(一律基準の 1/2 濃度)において、検討した大部分の農薬において良好なピーク面積再現性及び選択性が得られ、また、検量線も良好な直線性が得られたことから、GC-TOF-MS 法は残留農薬一斉分析法の測定法として適用可能であると考えられた。

E. 結論

(1) 精確な定量法の確立

1) 安定同位体による内標準法を用いた精確な定量法

平成 25 年度は、検討対象農薬等及び対応する安定同位体を LC-MS/MS で測定し、得られた結果を基に、安定同位体を用いた内標準法を使用した際に、分析結果に影響を及ぼし得る条件や因子等について考察した。平成 26 年度は、実際の試料マトリックスの存在下で測定を行い、本年度に得られた知見を基に、安定同位体を用いた内標準法を使用して精確な分析値を得るために必要な条件等を明らかにする予定である。

2) 標準添加法を用いた精確な定量法

大豆マトリックス標準溶液を用いて検量点数及び添加濃度の定量精度に与える影響について検討した。今後、様々な食品を用いて検討し、残留農薬検査において実施可能な標準的な方法を確立するとともに、その性能評価基準について検討する予定である。

(2) 効率的・網羅的な分析法の開発

1) LC-TOF-MS 法の検討

残留農薬一斉分析に適した LC-QTOF-MS 測定条件(キャピラリー電圧、コーン電圧及びコリ

ジョンエネルギー)や定量解析条件を確立した。今後、農薬及び動物用医薬品を対象に LC-TOF-MS を用いて妥当性評価試験を行い、LC-TOF-MS 法の一斉分析への適用性について検討を行う予定である。

2) GC-TOF-MS 法の検討

ほうれんそう及び玄米のマトリックス標準溶液を用いて、ピーク面積の再現性や選択性について検討した結果、試料中 0.005 ppm 相当(一律基準の 1/2 濃度、試験溶液の濃縮倍率 試料 2 g 相当/mL)においても、検討農薬の約 9 割で良好な結果が得られた。また、検量線も 0.0025 ~ 0.015 µg/mL 及び 0.025 ~ 0.15 µg/mL の範囲で、検討農薬の大部分で良好な直線性が得られた。これらの結果から、GC-TOF-MS を用いて妥当性評価試験を行い、妥当性が示されれば、スクリーニングのみならず、基準値判定にも GC-TOF-MS 法を用いることが可能であると考えられた。

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 を用いた茶熱湯浸出液中の残留農薬一斉分析法、日本食品化学学会誌、**20**(3)、221-225(2013)

2. 学会発表

齊藤静夏、根本 了、松田りえ子、手島玲子:超臨界流体抽出及び GC-MS/MS を用いた野菜・果実中の残留農薬一斉分析の検討、第 50 回全国衛生化学技術協議会年会(2013.11)

齊藤静夏、根本 了、松田りえ子、手島玲子:

LC-MS/MS を用いた茶熱湯浸出液中の残留農薬一斉分析法、第 50 回全国衛生化学技術協議会年会(2013.11)

齊藤静夏、根本 了、松田りえ子、手島玲子：
LC-QTOF-MS を用いた野菜・果実中の残留農

薬一斉分析の検討、第 106 回日本食品衛生学会学術講演会(2013.11)

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

. 分担研究報告

1. 精確な定量法の確立

- 1) 安定同位体標識標準品による内標準法を用いた
精確な定量法の検討

研究分担者 坂井隆敏

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 25 年度 分担研究報告書

1. 精確な定量法の確立

1) 安定同位体標識標準品による内標準法を用いた精確な定量法の検討

研究分担者 坂井隆敏 国立医薬品食品衛生研究所 食品部主任研究官

研究要旨

食品中残留農薬等分析における安定同位体標識標準品を用いた内標準法の標準的使用法及び評価基準を確立することを目的として、先ず、検討対象農薬等及び対応する安定同位体を LC-MS/MS で測定した。得られた結果を基に、安定同位体の種類や数、測定条件など、分析値に影響を及ぼす可能性がある因子について基礎的考察を行った。

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 820 品目を超える農薬等に基準値が設定されている。食品の安全性を確保するためには、膨大な数の残留農薬等进行分析し、精確かつ効率的に分析値を求める必要がある。しかしながら、分析する食品は多種多様であり、農薬等の中には測定の際に食品由来の夾雑成分の影響を受け易いものや、分析操作中に分解・揮散するものなどもあり、精確な分析値を求めることが困難な場合がある。

このような場合には、追加精製や分解等の防止処理などの検討を行うが、時間と手間を要する。精製等の操作を追加することなく、効率的に精確な分析値を求める手法として、安定同位体標識標準品(以下、安定同位体と略す。)による内標準法などの使用が提案されているが、これら手法を使用するための標準的な方法や評価基準などは示されておらず、また、どの程度まで精確な分析値が得られるかなどの詳細な情報はほとんど無い。

このように、標準的な方法や評価基準などが示されていない中でも、安定同位体による内標準法が使用されている理由としては、分析対象化合物である農薬等と対応する安定同位体は、質量数が異なることを除けば同一の物質であり、安定同位体を使用しさえすれば、どのような場合であっても精確な補正が可能、すなわち、分析対象農薬等の精確な分析値を得ることが可能と考えられているためと思われる。安定同位体による内標準法が使用されている文献等では、添加回収試験において分析対象化合物の補正後の回収率が 100%に近い値となっているものも多く、このような場合には、実際の分析においても内標準法で補正することにより精確な分析値が得られる可能性が高いと考えられる。一方で、添加回収試験における補正回収率が 100%に近い値となっていないものもあり、このような場合には、実際の分析においても精確な分析値が得られない可能性が高いと考えられる。

以上のような理由から、本研究では、安定同位体による内標準法を食品中残留農薬等分析に適用するに当たり、精確な分析値を得るため

に必要な標準的使用方法及び評価方法の確立について検討する。初年度である平成 25 年度は、先ず、検討対象化合物を液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)で測定し、安定同位体の標識同位体の種類や数、測定条件など、内標準法を適用する上で精確な定量に影響を及ぼす可能性がある因子について考察した。

B. 研究方法

検討対象農薬等の選択

先ず、検討対象農薬等及び対応する安定同位体の選択を行った。化合物の物性等から、一般的な方法では精確な分析値を得ることが比較的困難と考えられる農薬等であること、対応する安定同位体が市販されていることなどを考慮し、検討対象農薬等としてスルファジアジン、スルファメトキサゾール、チアベンダゾール及びトリメトプリムを選択した。なお、これら農薬等は、以降それぞれSDZ、SMXZ、TBZ及びTMPと略して記載した。また、対応する安定同位体としては、重水素(d)標識もしくは炭素 ^{13}C 標識された、SDZ- d_4 、SDZ- $^{13}\text{C}_6$ 、SMXZ- d_4 、SMXZ- $^{13}\text{C}_6$ 、TBZ- d_6 、TBZ- $^{13}\text{C}_6$ 、TMP- d_3 、TMP- $^{13}\text{C}_3$ 、TMP- d_9 を選択して用いた(表 1)。

標準原液及び標準溶液の調製

選択した検討対象農薬等及び対応する安定同位体について、それぞれ 1 mg/mL の標準原液を調製した。次いで、調製した標準原液を 0.1 vol%ギ酸及びアセトニトリル(1:1)混液を用いて希釈・混合し、必要な濃度の標準溶液もしくは混合標準溶液を調製した。

タンデム型質量分析条件の設定

調製した標準溶液を用いて、タンデム型質量分析計(MS/MS)における測定条件の最適化を

行った。すなわち、各検討対象農薬等及び対応する安定同位体の 500 ng/mL 標準溶液をそれぞれフローインジェクション分析で MS/MS に注入し、プリカーサーイオン及びプロダクトイオン、コーン電圧及びコリジョンエネルギー等の測定パラメータを最適化した。

液体クロマトグラフィー測定条件の設定

次いで、液体クロマトグラフ(LC)における測定条件を検討した。測定は、汎用的な逆相クロマトグラフィーを選択した。分析カラムは、逆相クロマトグラフィーにおいて一般的に使用されるオクタデシルシリル化シリカゲルが充填されたものを使用した。また、移動相は、高極性移動相として 0.1 vol%ギ酸、低極性移動相としてアセトニトリルを選択した。分析カラムからの溶出は、経時的にアセトニトリル比率を増加させるグラジエント溶出を採用した。なお、逆相クロマトグラフィーにおいては、移動相中の低極性溶媒の比率が高いほど、一般的に分析対象化合物の溶出が早くなることから、本研究では、アセトニトリル比率の増加の勾配が異なる 3 つのグラジエント条件を設定した。

LC-MS/MS 測定

設定した LC-MS/MS 測定条件を用いて各検討対象農薬等及び対応する安定同位体を測定し、保持時間やピーク面積等を求めた。得られた測定結果から、安定同位体の標識同位体の種類や数、測定条件など、内標準法を適用する上で精確な定量に影響を及ぼす可能性がある因子について考察した。

装置及び測定条件

以下に、研究で使用した装置及び測定条件を示した。

・LC

高速液体クロマトグラフ : Acquity UPLC (

Waters 製)

分析カラム: Inertsil ODS-4 HP(内径 3 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 μ m、GL Sciences 製)

カラム温度: 40

移動相: 0.1 vol%ギ酸(A 液)及びアセトニトリル(B 液)

グラジエント条件 (t:時間(分))

t_0 , B=1%; t_5 , B=1%; t_{30} , B=63.5%; $t_{30.1}$, B=99%; t_{35} , B=99%; $t_{35.1}$, B=1%; t_{45} , B=1%

グラジエント条件 (t:時間(分))

t_0 , B=1%; t_5 , B=1%; t_{25} , B=67%; $t_{25.1}$, B=99%; t_{30} , B=99%; $t_{30.1}$, B=1%; t_{40} , B=1%

グラジエント条件 (t:時間(分))

t_0 , B=1%; t_5 , B=1%; t_{20} , B=61%; $t_{20.1}$, B=99%; t_{25} , B=99%; $t_{25.1}$, B=1%; t_{35} , B=1%

流速: 0.4 mL/分

注入量: 5 μ L

質量分析

MS/MS: Acquity TQ Detector(Waters 製)

ソース温度: 150

脱溶媒温度: 400

窒素ガス流量: 800 L/hr

コーンガス流量: 50 L/hr

キャピラリー電圧: 1.5 kV

イオン化法: エレクトロスプレーイオン化法(ポジティブモード)

C. 研究結果

MS/MS 条件について

MS/MS 条件の最適化において得られた、各検討対象農薬等及び対応する安定同位体のプリカーサーイオン及びプロダクトイオン、並びにコ

ーン電圧及びコリジョンエネルギーを表 2 に示した。表 2 に示されるように、全ての検討対象農薬等及び対応する安定同位体において、プリカーサーイオンとしては「プロトン付加イオン」が選択された。プロダクトイオンについては、検討対象農薬等と対応する安定同位体で同様のフラグメントが生じ、同様のプロダクトイオンが生成していることが推察された。

LC-MS/MS 条件について

設定した LC-MS/MS 測定条件下で、各検討対象農薬等及び対応する安定同位体 10 ng/mL の混合標準溶液を 5 併行で測定した。LC 条件は、設定した 3 つのグラジエント条件(グラジエント条件、及び)を用いた。その結果、保持時間については、各グラジエント条件下で全ての検討対象農薬等及び対応する安定同位体について変動は無いことが確認された。また、ピーク面積値については、各グラジエント条件下で全ての検討対象農薬等及び対応する安定同位体について 6 RSD%未満の良好な併行精度が得られた。

保持時間について

各グラジエント条件における検討対象農薬等及び対応する安定同位体の保持時間を表 3 に示した。表 3 に示されるように、検討対象農薬等と対応する安定同位体では、若干ではあるが保持時間が異なり、検討対象農薬等よりも、対応する安定同位体の方が保持時間が短いことが確認された。また、安定同位体の標識数の増加に伴い、保持時間はより短くなることが予想された。また、標識数が同じであれば、 ^{13}C 標識安定同位体よりも d 標識安定同位体の方が保持時間が短い、すなわち、 ^{13}C 標識よりも d 標識の方が保持時間が短くなることへの寄与が大きいことが推察された。

検討対象農薬等及び対応する安定同位体の保持時間に及ぼすグラジエント条件の影響については、表 3 に示されるように、グラジエントにおけるアセトニトリル比率の勾配増加に伴い、保持時間が短くなる傾向が確認された。更に、グラジエント勾配の増加に伴い、検討対象農薬等と対応する安定同位体の保持時間の差が小さくなる傾向が確認された。

各検討対象農薬等及び対応する安定同位体のクロマトグラムを図 1 に示した。

ピーク面積値について

各検討対象農薬等及び対応する安定同位体の 10 ng/mL 混合標準溶液を測定し、得られたピーク面積値を比較した。一部の場合を除いて、検討対象農薬等と対応する安定同位体で同程度のピーク面積値が得られた。一方、SDZ- d_4 では、SDZ 及び SDZ- $^{13}C_6$ よりも若干小さいピーク面積値が得られ、また、TBZ- d_6 のピーク面積値は、TBZ 及び TBZ- $^{13}C_6$ で得られたピーク面積値の半分程度であった(表 4)。

検討対象農薬等のピーク面積値に及ぼす安定同位体中の不純物の影響について

本研究で使用した検討対象農薬等及び対応する安定同位体は、純度の算出方法は異なるものの、SMXZ- d_4 (純度 97.4%)、TBZ- d_6 (純度 98.0%) 及び TBZ- $^{13}C_6$ (純度 97.1%) を除いて、全て純度 99% 以上のものを使用した。

安定同位体による内標準法を使用する場合、当然ではあるが検体に安定同位体を添加して分析を行う。したがって、添加する安定同位体中に標識されていない化合物、すなわち分析対象となる農薬等そのものが混在していれば、最終的に得られる分析対象農薬等の分析値は、実際の値よりも高い値となる。本研究では、使用した検討対象農薬等及び対応する安定同位体の

標準溶液をそれぞれ測定し、得られたピーク面積値について考察した。なお、前述の通り、設定した LC-MS/MS 条件下で良好な併行精度が得られたことから、測定回数は 1 回とし、LC 条件はグラジエント条件 を使用した。

表 5 に示されるように、本研究で使用した安定同位体では、高濃度(1 $\mu\text{g/mL}$)の溶液を測定した場合においても、検討対象農薬等の測定イオンに由来するピークはほとんど得られず、安定同位体の標準品中には、標識されていない化合物、すなわち検討対象農薬等そのものはほとんど含まれていないことが確認された。

一方、 d 標識した安定同位体を測定した場合、検討対象農薬等の測定イオンに由来するピークはほとんど得られなかったが、 ^{13}C 標識した安定同位体の測定イオンに由来するピークが確認され、特に、TBZ- d_6 を測定した際に、TBZ- $^{13}C_6$ の測定イオンで大きなピークが確認された。

D. 考察

MS/MS における測定について

本研究で最適化した MS/MS 条件において、プリカーサーイオンに関しては、全ての検討対象農薬等及び対応する安定同位体について「プロトン付加イオン」が選択された。また、プロダクトイオンについては、検討対象農薬等の構造、得られたプロダクトイオンの質量数、安定同位体の標識位置や標識数を考慮すると、検討対象農薬等と対応する安定同位体で同様のフラグメントが生じ、安定同位体標識の有無により質量数は異なるが、検討対象農薬等と対応する安定同位体で同様のプロダクトイオンが得られていることが推察された。なお、検討対象農薬等の構造と得られたプロダクトイオンの質量数を考慮すると、SDZ- d_4 、SDZ- $^{13}C_6$ 、SMXZ- d_4 、SMXZ- $^{13}C_6$ 、

TBZ-¹³C₆ 及び TMP-¹³C₃ のプロダクトイオンは、プロトン付加イオンから d もしくは ¹³C 標識されていない部分が脱離したイオンであると推察された。TBZ-d₆ のプロダクトイオンは 6 つのうちの 1 つの d 標識部分が脱離したイオンであると推察された。また、TMP-d₃ のプロダクトイオンは全ての d 標識部分が脱離したものの、TMP-d₉ のプロダクトイオンは一部の d 標識部分が脱離したものであると推察された。

更に、各検討対象農薬等及び対応する安定同位体について設定された測定イオンは、ブリーカーイオンとプロダクトイオンを組み合わせるとそれぞれ異なることから、測定イオンの切り替えの際に他のイオンを測り込むことがなければ、各検討対象農薬等及び対応する安定同位体の特異的に検出することが可能であると考えられた。

LC-MS/MS における測定について

設定した LC-MS/MS 測定条件下で、各検討対象農薬等及び対応する安定同位体 10 ng/mL の混合標準溶液を 5 併行で測定したところ、全ての検討対象農薬等及び対応する安定同位体において保持時間の変動は無いことが確認された。また、ピーク面積値についても、全ての検討対象農薬等及び対応する安定同位体において 6 RSD%未満の良好な併行精度が得られた。

このことから、設定した LC-MS/MS 条件を用いて各検討対象農薬等及び対応する安定同位体を測定することにより、保持時間やピーク面積値など、検討対象農薬等と対応する安定同位体における測定の際の違いの有無を明らかにすることが可能であると考えられた。

保持時間について

設定した LC-MS/MS 測定条件において各検討対象農薬等及び対応する安定同位体を測定

した結果、若干ではあるが、検討対象農薬等よりも、対応する安定同位体の方が保持時間が短いことが確認された。また、TMP-d₃ 及び TMP-d₉ の保持時間の比較などから、安定同位体の標識数の増加に伴い、保持時間はより短くなる傾向が確認された。更に、TBZ-d₆ 及び TBZ-¹³C₆ の保持時間の比較などから、安定同位体の標識数が同じであれば、¹³C 標識安定同位体よりも d 標識安定同位体の方が保持時間が短くなる傾向が確認された。これらのことから、検討対象農薬等と対応する安定同位体の保持時間の差は、安定同位体の標識の種類や数に依存して変化すると考えられた。

また、グラジエントにおけるアセトニトリル比率の勾配が異なる 3 種類のグラジエント条件(条件 :2.5%/分で増加、条件 :3.3%/分で増加、条件 :4.0%/分で増加)を用いて測定を行った結果、勾配の増加に伴い、保持時間が短くなる傾向が確認された。更に、勾配の増加に伴い、検討対象農薬等と対応する安定同位体の保持時間の差が小さくなる傾向が確認された。

これらの結果から、使用する安定同位体の標識の種類や標識数、使用する LC 条件によっては、分析対象である農薬等と対応する安定同位体の保持時間が大きく異なる可能性があることが示唆された。

測定の際の試料マトリックスの影響を効率的に補正する場合にも、安定同位体による内標準法の適用も一つの有用な手段であると考えられる。ただし、このような場合に精確な補正を行うためには、分析対象農薬等と使用する安定同位体が、測定の際に同等のマトリックスの影響を受けている必要がある。分析対象農薬等と安定同位体の保持時間が同じ場合には、同等のマトリックスの影響を受けていることが予想されるが、

保持時間が異なる場合には、どの程度の保持時間の違いでマトリックスの影響の程度が異なるかについては不明である。

以上のように、使用する安定同位体や測定条件によっては、農薬等と安定同位体の保持時間が大きく異なる可能性があり、また、このような保持時間の違いは補正の精度に大きく影響する可能性があることが推察された。したがって、次年度においては、実際の食品マトリックスの存在下で測定を行い、検討対象農薬等と対応する安定同位体の保持時間の違いが、精確な補正にどの程度影響するかについて検討する必要があると考えられた。

ピーク面積値について

各検討対象農薬等及び対応する安定同位体の 10 ng/mL 混合標準溶液を測定した結果、一部の化合物を除き、検討対象農薬等と対応する安定同位体で同程度のピーク面積値が得られた。SDZ- d_4 のピーク面積値は、SDZ 及び SDZ- $^{13}C_6$ のピーク面積値よりも若干小さく、また、TBZ- d_6 のピーク面積値は、TBZ 及び TBZ- $^{13}C_6$ のピーク面積値の半分程度であった。

安定同位体による内標準法においては、分析対象農薬等と対応する安定同位体のピーク面積比を用いて試料中の分析対象農薬等の濃度を計算するため、各濃度に依存したピーク面積値が得られる場合は、ピーク面積値自体は定量性に大きな影響を及ぼす可能性は低いと思われる。ただし、TBZ- d_6 のピーク面積値が TBZ 及び TBZ- $^{13}C_6$ よりも低くなる原因によっては、試料マトリックスの存在下では TBZ- d_6 と TBZ のピーク面積比が異なる場合があることも予想される。したがって、次年度においては、実際の食品マトリックスの存在下で測定を行い、TBZ- d_6 と TBZ のピーク面積比の変動の有無を調査するとともに、

TBZ- d_6 のピーク面積値が TBZ や TBZ- $^{13}C_6$ のピーク面積値よりも低くなる原因について調査する必要があると考えられた。

検討対象農薬等のピーク面積値に及ぼす安定同位体中の不純物の影響について

安定同位体による内標準法を使用する場合、検体に一定濃度の安定同位体を添加して分析を行う。したがって、使用する安定同位体中に標識されていない化合物、すなわち分析対象となる農薬等そのものが含まれていれば、分析対象となる農薬等について得られる分析値は、実際の値よりも高い値となる。

本研究で使用した検討対象農薬等及び対応する安定同位体の高濃度の標準溶液 (1 $\mu\text{g/mL}$) をそれぞれ測定し、安定同位体中の検討対象農薬等の含有の有無を確認した。その結果、本研究で使用した安定同位体の中で検討対象農薬等そのものに由来するピーク面積値が最も大きかったものは TMP- d_3 であったが、1 $\mu\text{g/mL}$ の TMP 標準溶液の測定で得られたピーク面積値の 0.4%程度であった。その他の安定同位体については、検討対象農薬等そのものに由来するピークはほとんど検出されない、もしくは検出された場合であっても 1 $\mu\text{g/mL}$ の検討対象農薬等標準溶液の測定で得られたピーク面積値の 0.1%未満であった。

仮に、本研究で使用した TMP- d_3 を用いた内標準法で TMP の分析を行い、1 $\mu\text{g/g}$ 相当の TMP- d_3 を添加したとすると、検体中の実際の TMP 濃度が 10 ng/g であった場合には、添加した TMP- d_3 由来の TMP が加算され、分析値としては 13 ng/g 程度の値が得られることとなる。TMP- d_3 の添加濃度を 100 ng/g とした場合には、TMP- d_3 由来の TMP を加味しても分析値は 10.3 ng/g 程度となることから、添加する TMP- d_3 の分

析値に対する影響は小さくなると予想される。

以上のような結果及び考察から、安定同位体による内標準法を使用する場合には、予め、使用する安定同位体中の分析対象農薬等の有無、含まれる場合にはどの程度含まれるかを確認し、検体中の実際の分析対象農薬等の濃度に影響が無い濃度の安定同位体を添加することが重要であると考えられた。

実際の分析においては、検体中にどの程度の分析対象化合物が含まれているかを事前に把握することは出来ない。したがって、使用する安定同位体中に含まれる分析対象化合物の量を予め確認していた場合であっても、実際に添加する安定同位体濃度を決定し難いことも考えられる。一方、食品中残留農薬等分析においては、一般的には「当該食品に含まれる当該農薬等の量が、当該食品に設定された当該農薬等の基準値を超過しているか否か」が焦点となるため、基準値に近い濃度を精確に求めることが必要である。したがって、食品中残留農薬等分析において、安定同位体による内標準法を使用する場合には、各食品に設定された分析対象農薬等の基準値に相当する濃度の安定同位体を添加して分析を行うことが妥当と考えられた。

安定同位体の測定イオン等について

本研究で使用した安定同位体中の検討対象農薬等の含有の有無を確認したところ、前述の通り、検討対象農薬等そのものに由来するピークはほとんど検出されなかった。

一方で、d 標識安定同位体を測定した場合に¹³C 標識安定同位体の測定イオンに由来するピークや、¹³C 標識安定同位体を測定した場合にd 標識安定同位体の測定イオンに由来するピークが検出された。

本研究で使用した MS/MS 測定条件は、各検

討対象農薬等と各安定同位体でそれぞれ異なる測定イオン(プリカーサーイオンとプロダクトイオンの組み合わせ)が設定されている。したがって、このような原因としては、MS/MS 測定の際に、各安定同位体に設定された測定イオンで質量数の近い別の化合物を測り込んでいること、もしくは、安定同位体中に検討対象農薬等そのものが含まれている場合のように、測定した安定同位体中に、他の測定イオンで検出され得る化合物(不純物など)が含まれていることが考えられた。

SDZ-*d*₄ (1 µg/mL) 溶液を測定した場合、SDZ-¹³C₆ 測定イオン(*m/z* 257 *m/z* 162)では比較的大きなピークが得られた一方、SDZ-¹³C₆ (1 µg/mL) 溶液を測定した場合、SDZ-*d*₄ 測定イオン(*m/z* 255 *m/z* 160)で得られたピークは小さかった。このことから、SDZ の安定同位体において他の測定イオンに由来するピークが検出された原因としては、SDZ-*d*₄ 溶液中に、SDZ-¹³C₆ 測定イオンで検出され得る化合物が含まれている可能性が高いと推察された。

SMXZ の安定同位体と測定イオンにおいても、SDZ の安定同位体と測定イオンの場合と同様の現象が確認されたことから、原因についても同様に、SMXZ-*d*₄ 溶液中に、SMXZ-¹³C₆ 測定イオンで検出され得る化合物が含まれている可能性が高いと推察された。

一方、TBZ の安定同位体と測定イオンについては、TBZ-*d*₆ (1 µg/mL) 溶液を測定した場合の TBZ-¹³C₆ 測定イオン(*m/z* 208 *m/z* 181)においても、TBZ-¹³C₆ (1 µg/mL) 溶液を測定した場合の TBZ-*d*₆ 測定イオン(*m/z* 208 *m/z* 180)においても比較的大きなピークが得られた。TBZ-*d*₆ 測定イオンと TBZ-¹³C₆ 測定イオンは、測定イオンの質量数が近いことから、TBZ-¹³C₆ 測定イオン

で TBZ- d_6 を、TBZ- d_6 測定イオンで TBZ- $^{13}C_6$ を測り込んでいる可能性があることも推察された。加えて、TBZ- d_6 溶液を測定した場合に TBZ- $^{13}C_6$ 測定イオンにおいてより大きなピークが検出されたことから、TBZ- d_6 溶液中に、TBZ- $^{13}C_6$ 測定イオンで検出され得る化合物が含まれている可能性もあることが推察された。

TMP の安定同位体についても、TMP- d_3 (1 $\mu\text{g/mL}$) 溶液を測定した場合の TMP- $^{13}C_3$ 測定イオン (m/z 294 m/z 233) と TMP- $^{13}C_3$ (1 $\mu\text{g/mL}$) 溶液を測定した場合の TMP- d_3 測定イオン (m/z 294 m/z 230) で比較的大きなピークが検出され、特に TMP- d_3 溶液を測定した場合の TMP- $^{13}C_3$ 測定イオンでより大きなピークが検出されたことから、他のイオンを測り込んでいる可能性に加え、TMP- d_3 溶液中に、TMP- $^{13}C_3$ 測定イオンで検出され得る化合物が含まれている可能性があることが推察された。一方で、TMP- d_9 (1 $\mu\text{g/mL}$) 溶液を測定した場合に他の測定イオン (TMP、TMP- d_3 及び TMP- $^{13}C_3$ 測定イオン) ではピークが検出されず、また、他の溶液 (TMP、TMP- d_3 及び TMP- $^{13}C_3$ 溶液) を測定した場合の TMP- d_9 測定イオン (m/z 300 m/z 234) においてもピークは検出されなかった。この理由としては、TMP- d_9 測定イオンは、プロダクトイオンに関して他の測定イオンと大きく異なっているため、他のイオンを測り込むことがほとんど無かったことや、TMP- d_9 溶液中に他の測定イオンで検出され得る化合物がほとんど含まれていなかったためと推察された。

安定同位体を用いた内標準法を使用する場合には、一つの分析対象農薬等に対して複数の安定同位体を用いることは極めて稀であると考えられるため、上述のように、複数の安定同位体について他のイオンの測り込みや他の測定イ

オンで検出され得る化合物の存在などを考慮する必要はほとんど無いが、少なくとも、分析対象農薬等と使用する安定同位体については、互いの測定イオンで検出され得る化合物の含有の有無や程度、設定した測定イオンにおける測り込みの有無や程度などを調査し、分析対象農薬等の定量に影響が無いことを確認しておく必要があると考えられた。

TMP- d_9 溶液と測定イオンで得られた結果及び考察から、標識数の多い安定同位体を使用することにより、分析対象農薬等の測定イオンで安定同位体を測り込む可能性や、安定同位体中に分析対象農薬等の測定イオンで検出され得る化合物が含まれる可能性は少なくなることが予想された。このことから、質量分析においては、標識数の多い安定同位体を使用することにより、分析対象農薬等及び安定同位体について、それぞれ濃度に応じた正確なピーク面積値を得ることが可能であると推察された。一方で、LC 分析においては、標識数が多い程、分析対象農薬等と安定同位体の保持時間の差が大きくなり、測定の際に受ける試料マトリックスの影響の程度が異なる可能性があることが推察された。したがって、次年度においては、試料マトリックスの存在下で測定を行い、得られるピーク面積値や保持時間が精確な定量にどのような影響を及ぼし得るかについて詳細に検討する必要があると考えられた。

E. 結論

研究初年度である平成 25 年度は、検討対象農薬等及び対応する安定同位体を LC-MS/MS で測定し、得られた結果を基に、安定同位体を用いた内標準法を使用した際に、分析結果に影響を及ぼし得る条件や因子等について考察した。

平成 26 年度は、実際の試料マトリックスの存在下で測定を行い、本年度に得られた知見を基に、安定同位体を用いた内標準法を使用して正確な分析値を得るために必要な条件等を明らかにする予定である。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 本研究で使用した検討対象農薬等及び対応する安定同位体

| | 分子量 | 記載純度 (%) | 純度算出方法 | 標識位置 | 標識位置 (推定) |
|------------------|-------|----------|--------|---------------|---------------------|
| SDZ | 250.3 | 99.8 | HPLC | | |
| SDZ- d_4 | 254.3 | 99.9 | 記載無し | 記載無し | フェニル基 |
| SDZ- $^{13}C_6$ | 256.2 | 99.7 | HPLC | フェニル基 | |
| SMXZ | 253.3 | 99.0 | HPLC | | |
| SMXZ- d_4 | 257.3 | 97.4 | 記載無し | 記載無し | フェニル基 |
| SMXZ- $^{13}C_6$ | 259.2 | 99.3 | HPLC | フェニル基 | |
| TBZ | 201.3 | 99.9 | GC | | |
| TBZ- d_6 | 207.3 | 98.0 | HPLC | 記載無し | 全てのC-H結合 |
| TBZ- $^{13}C_6$ | 207.3 | 97.1 | 記載無し | フェニル基 | |
| TMP | 290.3 | 100.0 | HPLC | | |
| TMP- d_3 | 293.3 | 99.6 | atom%D | 4-メトキシ基 | |
| TMP- $^{13}C_3$ | 293.3 | 99.0 | 記載無し | 記載無し | ピリミジン環 (4つの炭素の内の3つ) |
| TMP- d_9 | 299.4 | 99.9 | HPLC | 3,4,5-トリメトキシ基 | |

表 2 本研究で使用した検討対象農薬等及び対応する安定同位体の MS/MS 条件

| | 分子量 | プリカーサー イオン(m/z) | プロダクト イオン(m/z) | コロン電圧 (V) | CE ^{*1} (eV) |
|------------------|-------|------------------------|-----------------------|--------------|--------------------------|
| SDZ | 250.3 | 251 | 156 | 30 | 15 |
| SDZ- d_4 | 254.3 | 255 | 160 | 30 | 15 |
| SDZ- $^{13}C_6$ | 256.2 | 257 | 162 | 30 | 15 |
| SMXZ | 253.3 | 254 | 156 | 30 | 15 |
| SMXZ- d_4 | 257.3 | 258 | 160 | 30 | 15 |
| SMXZ- $^{13}C_6$ | 259.2 | 260 | 162 | 30 | 15 |
| TBZ | 201.3 | 202 | 175 | 50 | 28 |
| TBZ- d_6 | 207.3 | 208 | 180 | 50 | 28 |
| TBZ- $^{13}C_6$ | 207.3 | 208 | 181 | 50 | 28 |
| TMP | 290.3 | 291 | 230 | 45 | 25 |
| TMP- d_3 | 293.3 | 294 | 230 | 45 | 25 |
| TMP- $^{13}C_3$ | 293.3 | 294 | 233 | 45 | 25 |
| TMP- d_9 | 299.4 | 300 | 234 | 45 | 25 |

*1 CE: コリジョンエネルギー

表 3 検討対象農薬等及び対応する安定同位体の保持時間等

| | グラジエント条件 (勾配 2.5%/分) | | | グラジエント条件 (勾配 3.3%/分) | | | グラジエント条件 (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 | 14.02 | - | - | 13.05 | - | - | 12.46 | - | - |
| SDZ- d_4 | 13.94 | -0.08 | -4.8 | 13.01 | -0.04 | -2.4 | 12.42 | -0.04 | -2.4 |
| SDZ- $^{13}C_6$ | 14.02 | 0 | 0 | 13.05 | 0 | 0 | 12.46 | 0 | 0 |
| SMXZ | 19.76 | - | - | 17.52 | - | - | 16.22 | - | - |
| SMXZ- d_4 | 19.67 | -0.09 | -5.4 | 17.48 | -0.04 | -2.4 | 16.18 | -0.04 | -2.4 |
| SMXZ- $^{13}C_6$ | 19.72 | -0.04 | -2.4 | 17.52 | 0 | 0 | 16.22 | 0 | 0 |
| TBZ | 14.40 | - | - | 13.18 | - | - | 12.46 | - | - |
| TBZ- d_6 | 14.28 | -0.12 | -7.2 | 13.10 | -0.08 | -4.8 | 12.38 | -0.08 | -4.8 |
| TBZ- $^{13}C_6$ | 14.36 | -0.04 | -2.4 | 13.14 | -0.04 | -2.4 | 12.42 | -0.04 | -2.4 |
| TMP | 14.87 | - | - | 13.47 | - | - | 12.63 | - | - |
| TMP- d_3 | 14.78 | -0.09 | -5.4 | 13.43 | -0.04 | -2.4 | 12.59 | -0.04 | -2.4 |
| TMP- $^{13}C_3$ | 14.82 | -0.05 | -3.0 | 13.43 | -0.04 | -2.4 | 12.63 | 0 | 0 |
| TMP- d_9 | 14.70 | -0.17 | -10.2 | 13.35 | -0.12 | -7.2 | 12.55 | -0.08 | -4.8 |

表 4 検討対象農薬等及び対応する安定同位体のピーク面積値

| | グラジエント条件 (勾配 2.5%/分) | | グラジエント条件 (勾配 3.3%/分) | | グラジエント条件 (勾配 4.0%/分) | |
|------------------------------------|-------------------------|------------------|-------------------------|------------------|-------------------------|------------------|
| | ピーク面積値 (平均値) | 相対標準偏差 (RSD%) | ピーク面積値 (平均値) | 相対標準偏差 (RSD%) | ピーク面積値 (平均値) | 相対標準偏差 (RSD%) |
| SDZ | 12660 | 1.8 | 12329 | 5.2 | 10099 | 0.9 |
| SDZ- <i>d</i> ₄ | 7950 | 1.5 | 8477 | 1.6 | 6683 | 2.5 |
| SDZ- ¹³ C ₆ | 12868 | 3.1 | 10884 | 0.5 | 10591 | 2.8 |
| SMXZ | 13029 | 1.3 | 11133 | 2.6 | 14096 | 1.2 |
| SMXZ- <i>d</i> ₄ | 11074 | 0.6 | 11308 | 5.2 | 11866 | 1.9 |
| SMXZ- ¹³ C ₆ | 12267 | 2.4 | 12739 | 1.9 | 13022 | 1.3 |
| TBZ | 18880 | 0.9 | 18157 | 2.0 | 16978 | 2.1 |
| TBZ- <i>d</i> ₆ | 9169 | 1.4 | 10297 | 2.1 | 10321 | 2.9 |
| TBZ- ¹³ C ₆ | 22896 | 2.2 | 21699 | 1.7 | 21136 | 2.4 |
| TMP | 10695 | 4.0 | 8938 | 1.6 | 11242 | 2.5 |
| TMP- <i>d</i> ₃ | 8839 | 2.1 | 8525 | 3.0 | 10204 | 1.5 |
| TMP- ¹³ C ₃ | 10325 | 2.5 | 10307 | 3.5 | 12135 | 2.5 |
| TMP- <i>d</i> ₉ | 10704 | 2.9 | 12666 | 1.8 | 10159 | 3.1 |

表 5 各測定溶液と各測定イオンで得られるピーク面積値の関係

| | ピーク面積値 | | |
|---|----------------|---------------------------------------|--|
| | SDZ 1 µg/mL | SDZ- <i>d</i> ₄ 1 µg/mL | SDZ- ¹³ C ₆ 1 µg/mL |
| SDZ測定イオン(<i>m/z</i> 251 <i>m/z</i> 156) | 882648 | 361 | ND |
| SDZ- <i>d</i> ₄ 測定イオン(<i>m/z</i> 255 <i>m/z</i> 160) | 302 | 589043 | 398 |
| SDZ- ¹³ C ₆ 測定イオン(<i>m/z</i> 257 <i>m/z</i> 162) | ND | 28536 | 889566 |

| | ピーク面積値 | | |
|---|-----------------|--|---|
| | SMXZ 1 µg/mL | SMXZ- <i>d</i> ₄ 1 µg/mL | SMXZ- ¹³ C ₆ 1 µg/mL |
| SMZ測定イオン(<i>m/z</i> 254 <i>m/z</i> 156) | 1194163 | 183 | 330 |
| SMZ- <i>d</i> ₄ 測定イオン(<i>m/z</i> 258 <i>m/z</i> 160) | 643 | 1060817 | 794 |
| SMZ- ¹³ C ₆ 測定イオン(<i>m/z</i> 260 <i>m/z</i> 162) | 36 | 46492 | 1140044 |

| | ピーク面積値 | | |
|---|----------------|---------------------------------------|--|
| | TBZ 1 µg/mL | TBZ- <i>d</i> ₆ 1 µg/mL | TBZ- ¹³ C ₆ 1 µg/mL |
| TBZ測定イオン(<i>m/z</i> 202 <i>m/z</i> 175) | 1621936 | 325 | 1037 |
| TBZ- <i>d</i> ₆ 測定イオン(<i>m/z</i> 208 <i>m/z</i> 180) | 34 | 872134 | 24133 |
| TBZ- ¹³ C ₆ 測定イオン(<i>m/z</i> 208 <i>m/z</i> 181) | 34 | 328719 | 1486423 |

| | ピーク面積値 | | | |
|---|----------------|---------------------------------------|--|---------------------------------------|
| | TMP 1 µg/mL | TMP- <i>d</i> ₃ 1 µg/mL | TMP- ¹³ C ₃ 1 µg/mL | TMP- <i>d</i> ₉ 1 µg/mL |
| TMP測定イオン(<i>m/z</i> 291 <i>m/z</i> 230) | 769943 | 3385 | ND | ND |
| TMP- <i>d</i> ₃ 測定イオン(<i>m/z</i> 294 <i>m/z</i> 230) | 178 | 668048 | 1697 | ND |
| TMP- ¹³ C ₃ 測定イオン(<i>m/z</i> 294 <i>m/z</i> 233) | 577 | 54090 | 694065 | ND |
| TMP- <i>d</i> ₉ 測定イオン(<i>m/z</i> 300 <i>m/z</i> 234) | ND | ND | ND | 821120 |

ND: not detected

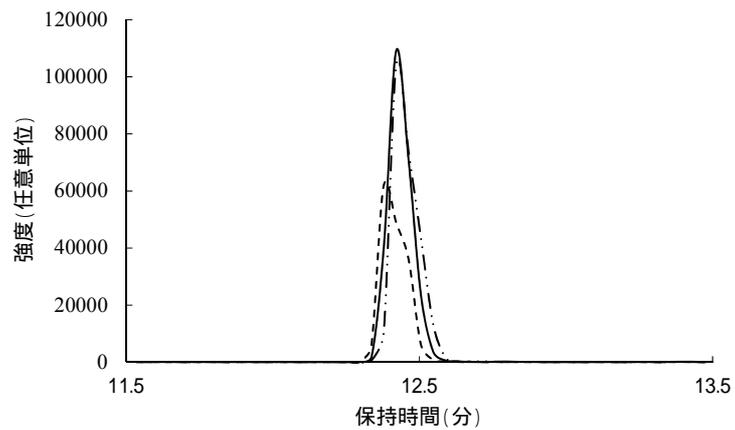
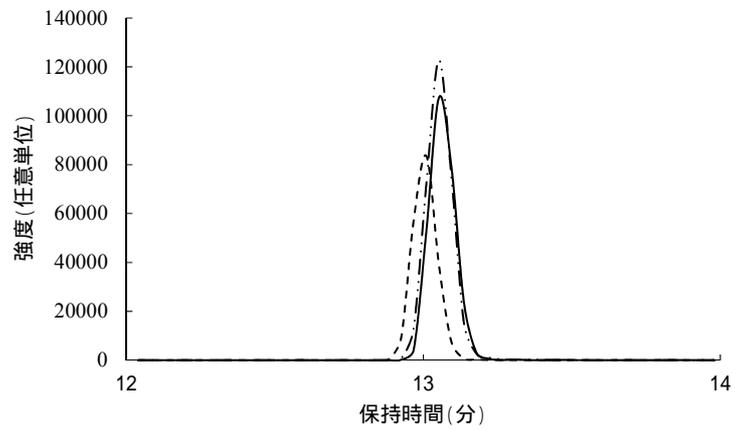
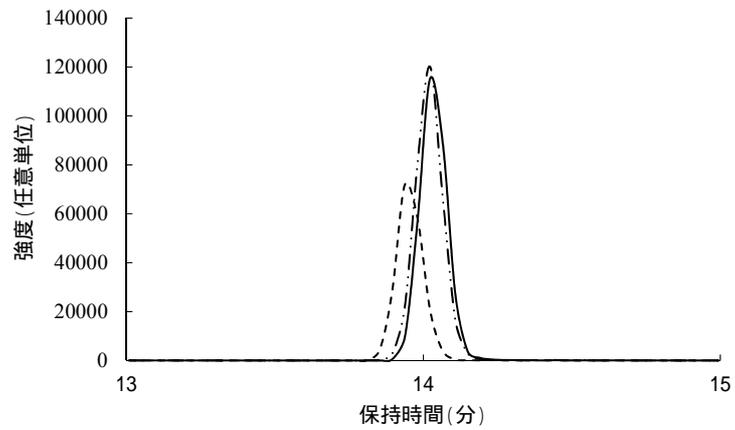


図 1-1 SDZ、SDZ- d_4 及び SDZ- $^{13}C_6$ のクロマトグラム
 — : SDZ、 - - - - : SDZ- d_4 、 - · - · : SDZ- $^{13}C_6$
 上 : グラジエント条件
 中 : グラジエント条件
 下 : グラジエント条件

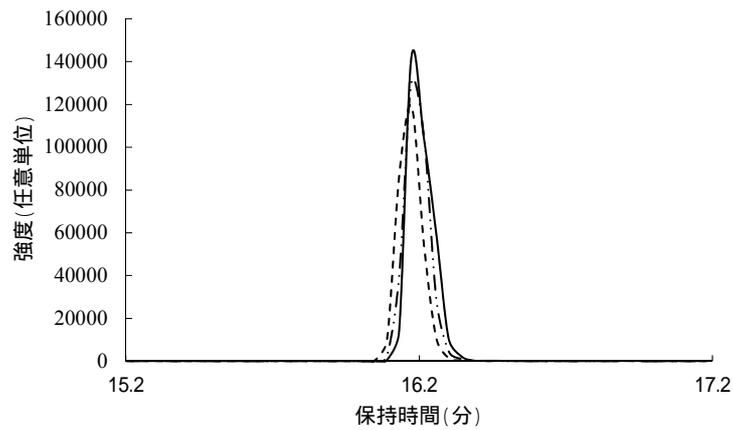
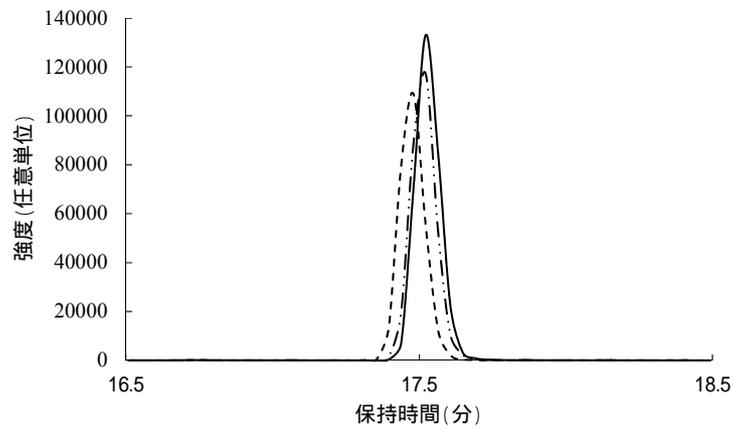
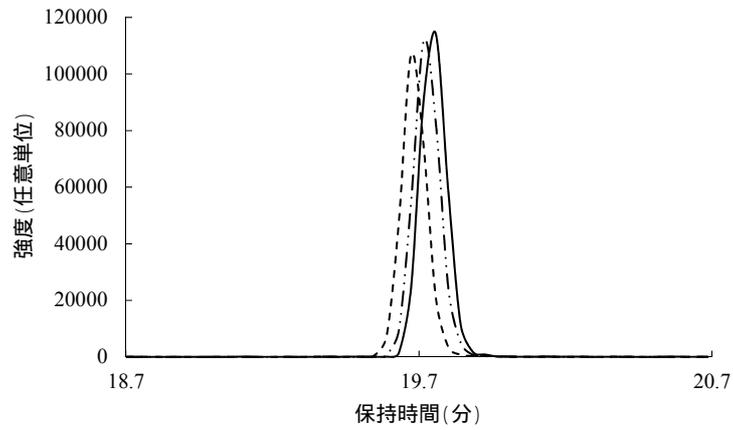


図 1-2 SMXZ、SMXZ- d_4 及び SMXZ- $^{13}C_6$ のクロマトグラム
 — : SMXZ、 - - - : SMXZ- d_4 、 - · - · : SMXZ- $^{13}C_6$
 上 : グラジエント条件
 中 : グラジエント条件
 下 : グラジエント条件

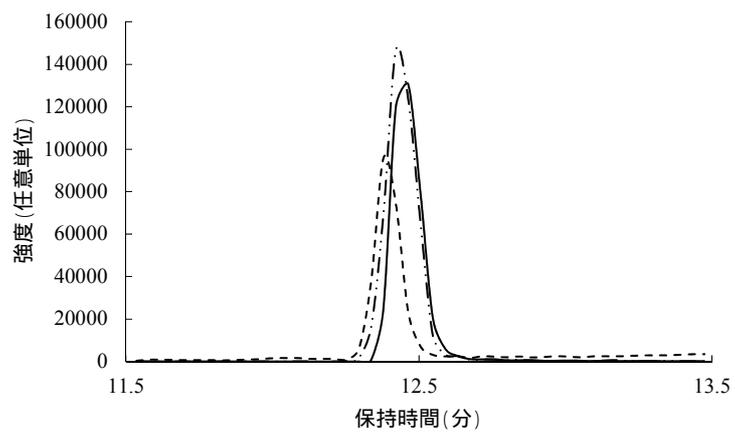
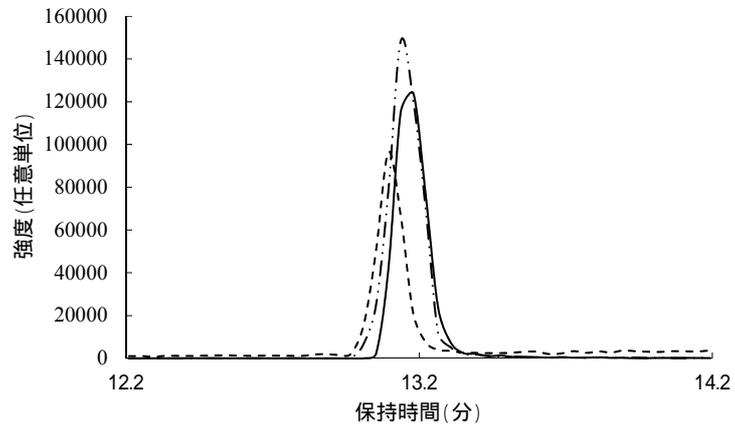
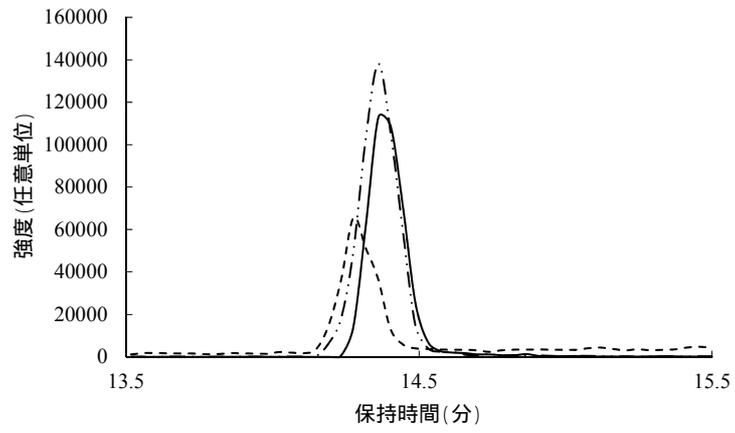


図 1-3 TBZ、TBZ-d₄ 及び TBZ-¹³C₆ のクロマトグラム

——:TBZ、 - - - - -:TBZ-d₄、 - · - · -:TBZ-¹³C₆

上: グラジエント条件

中: グラジエント条件

下: グラジエント条件

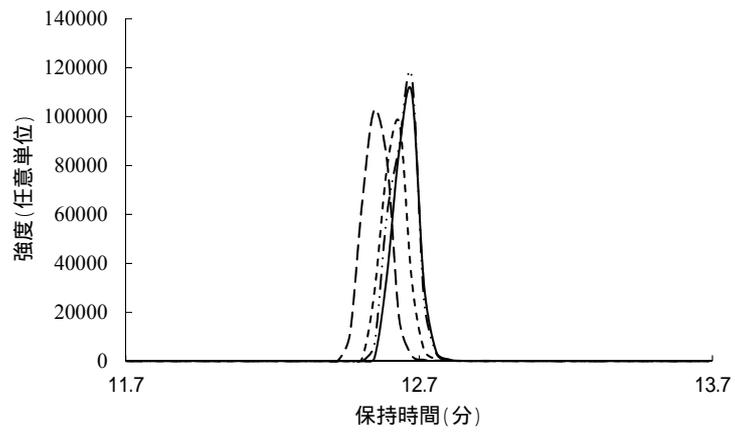
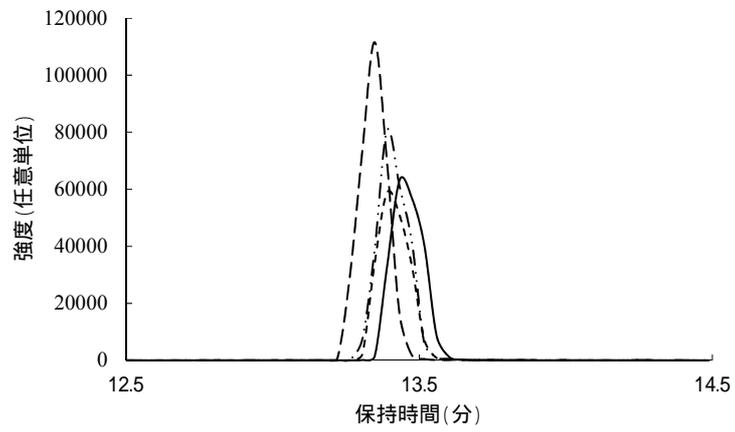
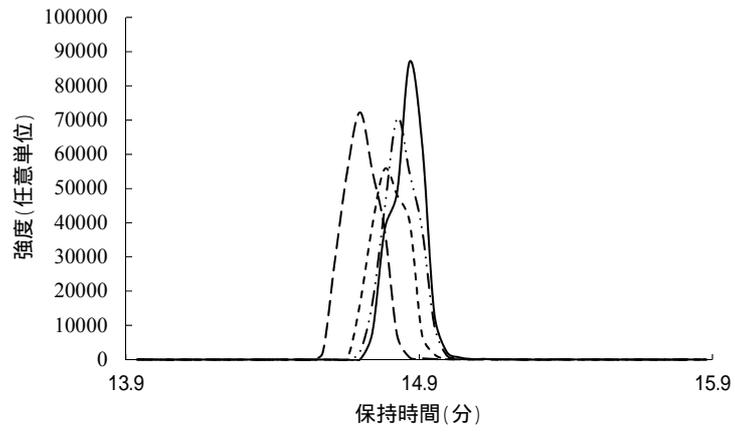


図 1-4 TMP、TMP- d_3 、TMP- $^{13}C_3$ 及び TMP- d_9 のクロマトグラム
 ———:TMP、 - - - - -:TMP- d_3 、 - · - · - :TMP- $^{13}C_3$ 、 - - - - -:TMP- d_9
 上: グラジエント条件
 中: グラジエント条件
 下: グラジエント条件

. 分担研究報告

1. 精確な定量法の確立
- 2) 標準添加法を用いた精確な定量法の検討

研究分担者 齊籐静夏

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 25 年度分担研究報告書

1. 精確な定量法の確立
2) 標準添加法を用いた精確な定量法の検討

研究分担者 齊藤静夏 国立医薬品食品衛生研究所 食品部主任研究官

研究要旨

残留農薬等分析に適した標準添加法による精確な定量法の検討を行った。検討にあたっては、大豆マトリックス標準溶液を用いて検量点数や添加濃度の定量精度に与える影響について評価した。その結果、初期濃度に近い 1 点を複数回繰り返し測定した場合の方が、多数の検量点を用いた場合よりも良好な結果が得られた。

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 800 品目の農薬等に基準値が設定されている。食品の安全確保のためには、これらの膨大な数の品目について精確かつ効率的に分析値を求める必要がある。

食品中の残留農薬分析のように、複雑な夾雑成分の共存下での微量分析においては、食品中のマトリックスの影響(マトリックス効果)により、精確な分析値を得ることが困難な場合がある。解決方法としては、安定同位体標識標準品を用いた内標準法による定量や、標準添加法による定量が提案されているが、食品中の残留農薬等検査における標準的実施方法や性能評価基準はない。

本研究では、残留農薬分析における「精確な定量法」について検討を行った。すなわち、残留農薬検査においても実施可能な簡便かつ高精度な標準添加法による定量法とその評価方法を確立するため、本年度はマトリックス標準溶液を用いて検量点数や添加濃度の定量精度に与える影響について検討した。

B. 研究方法

1. 試料

市販の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ものをを用いた。

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、アセトン、トルエン及びヘキサンは関東化学(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。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。

(2) 農薬標準品及び標準溶液

検討に用いた農薬を表 1 に示した。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)、Sigma-Aldrich 社、Dr. Ehrenstorfers 社及び 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、ヘキサン(ヘキサンへの溶解性が低い場合はアセトン/ヘキサンの混合溶媒)10 mL に溶解して調製した。混合標準溶液は、各農薬の標準原液を混合し、アセトン/ヘキサン(1:1)で適

宜希釈して調製した。

(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(担体量 1000 mg)を用いた。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(NH₂)積層ミニカラムは、ジーエルサイエンス社製の InertSep GC/NH₂(充てん量 500mg/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(K₂HPO₄)52.7 g 及びリン酸二水素カリウム(KH₂PO₄)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

GC-MS/MS は、ガスクロマトグラフ Trace1310、オートサンプラー TriPlus RSH 及び質量分析計 TSQ8000(ThermoFisher Scientific 製)を使用した。

4. 測定条件

カラム DB-5ms(内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm、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ライナーに石英ウールを充填したもの；カラム温度 50 (1 min) - 25 /min - 125 (0 min) - 10 /min - 300 (8.5 min)；注入口温度 260 ；トランスファーライン温度 280 ；イオン源温度 260 ；キャリアーガス ヘリウム；キャリアーガス流量 1 mL/min；注入法 ホットニードル法(Pre-injection time 5 s、Post-injection time 0.5 s)；注入量 2 μL；イオン化法 EI (+)；測定モード SRM(selected reaction monitoring)；測定イオン、コリジョンエネルギー及び保持時間 表 1 に示した。

5. ブランク試験溶液の調製

通知「農薬等の GC-MS 一斉試験法」において、及び を変更した以外は当該試験法に従って試験溶液を調製した。

塩析後、遠心分離(毎分 3000 回転、5 分間)

を行った。

ODS ミニカラム精製の溶出溶媒量を 5 mL とした。

(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 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/NH₂ 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 回容器を洗浄した)を注入した。全溶出液を採り、40 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、最終試験溶液の濃度が試料 1.0 g 相当/mL となるように残留物をアセトン/ヘキサン(1:1)で溶解した。5 サンプルについて調製し、試験溶液を合わせた。

6. 試験溶液の調製

ブランク試験溶液 8 mL を採り、濃縮乾固した後、残留物を 0.01 μg/mL(試料中濃度 0.01 ppm 相当)の混合標準溶液 8 mL に溶解してマトリックス標準溶液とし、表 2 に示した Vial 1~6 の試

験溶液を調製した。

C. 研究結果及び考察

標準添加法における検量点数(1~5点)及び添加濃度の定量精度に与える影響について検討をするため、大豆のマトリックス標準溶液(10 ng/mL)を用いて、表2に示した Vial 1~6を調製し、それぞれ3回測定して、標準添加法により初期濃度を推定した。結果を表3、検量線を図1に示した。その結果、検量点が5点の場合は、検討した23化合物はいずれも、決定係数が $r^2 > 0.99$ となり、良好な直線性が得られた。しかしながら、標準添加法から求めた初期濃度は7.0~9.1 ng/mLと低い濃度となった。一方、初期量と同量(10 ng)を添加して1点で求めた場合の推定濃度は8.5~10.5 ng/mLとなり、良好な結果が得られた。初期量の3倍量(30 ng)を添加して1点で求めた場合の推定濃度は、5点で求めた場合よりは高いものの、7.8~9.3 ng/mLとなり、やや低い濃度となった。これらの結果から、初期濃度に近い1点を複数回繰り返し測定した場合の

方が、多数の検量点を用いた場合よりも良好な結果が得られると考えられたことから、今後様々な食品で確認する予定である。

D. 結論

大豆マトリックス標準溶液を用いて検量点数及び添加濃度の定量精度に与える影響について検討した。今後、様々な食品を用いて検討し、残留農薬検査において実施可能な標準的な方法を確立するとともに、その性能評価基準について検討する予定である。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 標準添加法の検討に用いた農薬の GC-MS/MS 測定条件

| Compound | Retention time | Quantitation ion | | | Confirmation ion | | |
|-----------------|-------------------------|---------------------|-------------------|-----------------------|---------------------|-------------------|-----------------------|
| | | Precursor ion (m/z) | Product ion (m/z) | collision energy (eV) | Precursor ion (m/z) | Product ion (m/z) | collision energy (eV) |
| Acetochlor | 13.51 | 223.1 | 132.1 | 14 | 223.1 | 147.1 | 14 |
| Aldrin | 14.6 | 262.8 | 193.0 | 24 | 262.8 | 228.0 | 20 |
| Atrazine | 12.15 | 200.1 | 122.1 | 10 | 215.1 | 200.2 | 10 |
| Azaconazole | 16.68 | 217.0 | 173.0 | 20 | 172.9 | 145.0 | 20 |
| Azoxystrobin | 23.71 | 344.1 | 329.3 | 18 | 388.1 | 360.3 | 8 |
| -BHC | 12.96 | 218.9 | 183.0 | 8 | 181.0 | 145.0 | 14 |
| Chlorpyrifos | 14.46 | 314.0 | 258.0 | 14 | 196.9 | 169.0 | 14 |
| Cypermethrin | 21.51,21.61,21.69,21.73 | 163.0 | 127.0 | 8 | 181.1 | 152.0 | 20 |
| Cyproconazole | 16.88 | 222.1 | 125.0 | 20 | 224.1 | 127.0 | 20 |
| p,p'-DDT | 17.98 | 235.0 | 165.1 | 20 | 237.0 | 165.1 | 20 |
| EPN | 18.89 | 157.0 | 110.0 | 14 | 169.1 | 141.0 | 8 |
| Epoiconazole | 18.49 | 192.0 | 138.0 | 14 | 192.0 | 111.0 | 20 |
| Ethion | 17.24 | 231.0 | 128.9 | 20 | 231.0 | 175.0 | 14 |
| Fluvalinate | 22.60, 22.68 | 250.1 | 200.2 | 18 | 252.1 | 200.2 | 18 |
| Isoprocarb | 9.81 | 136.1 | 121.1 | 10 | 121.1 | 103.0 | 10 |
| Lenacil | 17.9 | 153.1 | 136.1 | 14 | 153.1 | 110.0 | 14 |
| Malathion | 14.32 | 173.1 | 127.0 | 8 | 127.1 | 99.0 | 8 |
| Myclobutanil | 16.53 | 179.1 | 125.0 | 20 | 288.2 | 179.1 | 14 |
| Propoxur | 10.61 | 152.1 | 110.0 | 8 | 110.1 | 82.0 | 20 |
| Simeconazole | 13.68 | 195.1 | 75.0 | 14 | 211.1 | 121.0 | 14 |
| Thiobencarb | 14.52 | 257.1 | 100.1 | 14 | 100.1 | 72.0 | 8 |
| Tri-allate | 12.95 | 268.1 | 184.0 | 14 | 270.1 | 186.0 | 20 |
| Trifloxystrobin | 17.72 | 222.1 | 190.2 | 8 | 190.1 | 130.0 | 8 |

表 2 標準添加法の試験溶液の調製方法

| | Vial 1 | Vial 2 | Vial 3 | Vial 4 | Vial 5 | Vial 6 |
|--|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Volume of sample extract ¹⁾ (μL) | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 |
| Added volume of standard solution (200 ng/mL) (μL) | 0 | 25 | 50 | 75 | 100 | 150 |
| Resulting mass of added pesticide (ng) | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 | 30 |
| Added volume of solvent ²⁾ (μL) | 150 | 125 | 100 | 75 | 50 | 0 |
| Final volume (μL) | 1150 | 1150 | 1150 | 1150 | 1150 | 1150 |

1) Approximate (estimated) residue level: 10 ng/mL

2) Acetone/hexane (1:1)

表 3 標準添加法による大豆マトリックス標準溶液(初期濃度 10 ng/mL)の推定濃度 (ng/mL)

| | One-point calibration | | | | | | | | | |
|-----------------|-----------------------|--------|------------------|--------|------------------|--------|------------------|--------|------------------|--------|
| | 5 ¹⁾ | | 10 ¹⁾ | | 15 ¹⁾ | | 20 ¹⁾ | | 30 ¹⁾ | |
| | Ave. | RSD(%) | Ave. | RSD(%) | Ave. | RSD(%) | Ave. | RSD(%) | Ave. | RSD(%) |
| Acetochlor | 11.5 | 1.5 | 9.6 | 17.3 | 9.6 | 2.9 | 9.1 | 5.5 | 8.9 | 3.7 |
| Aldrin | 9.6 | 11.3 | 10.1 | 7.0 | 9.6 | 12.3 | 9.2 | 2.3 | 9.1 | 5.2 |
| Atrazine | 11.3 | 16.8 | 9.5 | 17.2 | 9.6 | 9.0 | 9.1 | 6.5 | 9.3 | 8.7 |
| Azaconazole | 10.2 | 11.3 | 9.2 | 4.0 | 8.9 | 2.6 | 8.4 | 3.0 | 8.4 | 2.6 |
| Azoxystrobin | 11.5 | 13.5 | 10.3 | 7.6 | 9.4 | 3.5 | 8.9 | 6.2 | 8.6 | 0.8 |
| –BHC | 11.0 | 11.1 | 10.5 | 12.9 | 9.5 | 7.7 | 9.1 | 7.5 | 9.2 | 8.9 |
| Chlorpyrifos | 9.7 | 3.9 | 9.5 | 4.3 | 8.4 | 5.8 | 8.5 | 4.8 | 8.1 | 10.4 |
| Cypermethrin | 10.0 | 6.6 | 9.6 | 5.1 | 9.0 | 4.0 | 8.7 | 5.7 | 8.7 | 3.8 |
| Cyproconazole | 10.3 | 19.4 | 9.3 | 8.3 | 8.8 | 2.7 | 8.5 | 5.0 | 8.4 | 3.6 |
| p,p'-DDT | 9.9 | 4.3 | 9.8 | 11.8 | 8.5 | 3.1 | 8.0 | 6.8 | 7.8 | 2.9 |
| EPN | 10.7 | 14.5 | 9.9 | 12.5 | 9.0 | 7.5 | 8.7 | 8.3 | 8.6 | 5.0 |
| Epoxiconazole | 9.6 | 10.7 | 9.1 | 7.4 | 8.6 | 3.7 | 8.3 | 5.3 | 8.3 | 4.5 |
| Ethion | 10.0 | 12.6 | 9.3 | 7.8 | 8.7 | 4.9 | 8.2 | 6.8 | 8.1 | 5.3 |
| Fluvalinate | 9.4 | 6.1 | 9.3 | 5.6 | 8.7 | 4.6 | 8.4 | 3.3 | 8.4 | 3.0 |
| Isoprocarb | 10.5 | 4.3 | 10.3 | 7.4 | 9.5 | 2.4 | 9.3 | 6.0 | 9.3 | 3.1 |
| Lenacil | 10.4 | 13.9 | 9.9 | 11.9 | 9.3 | 7.6 | 8.8 | 12.4 | 8.8 | 7.3 |
| Malathion | 9.4 | 16.2 | 8.9 | 10.1 | 8.4 | 11.6 | 8.2 | 9.7 | 8.4 | 6.8 |
| Myclobutanil | 10.2 | 4.4 | 9.6 | 5.8 | 8.9 | 0.6 | 8.6 | 0.8 | 8.6 | 3.2 |
| Propour | 9.8 | 7.5 | 9.8 | 8.0 | 8.9 | 2.2 | 8.5 | 5.7 | 8.3 | 5.0 |
| Simeconazole | 8.8 | 6.7 | 8.5 | 6.7 | 8.5 | 8.6 | 8.3 | 8.3 | 8.3 | 6.0 |
| Thiobencarb | 9.8 | 13.8 | 9.2 | 16.1 | 8.6 | 2.1 | 8.2 | 5.9 | 8.6 | 5.3 |
| Triallate | 9.7 | 12.8 | 9.6 | 8.1 | 9.2 | 5.8 | 8.9 | 4.0 | 8.7 | 2.7 |
| Trifloxystrobin | 10.1 | 20.4 | 8.9 | 7.6 | 8.4 | 8.2 | 8.3 | 8.3 | 8.5 | 5.5 |

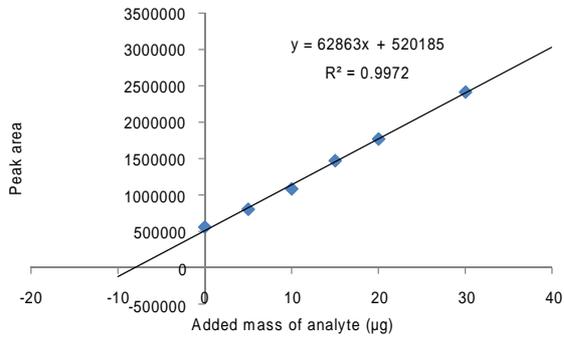
¹⁾ 添加量 (ng)

表 3 (つづき)

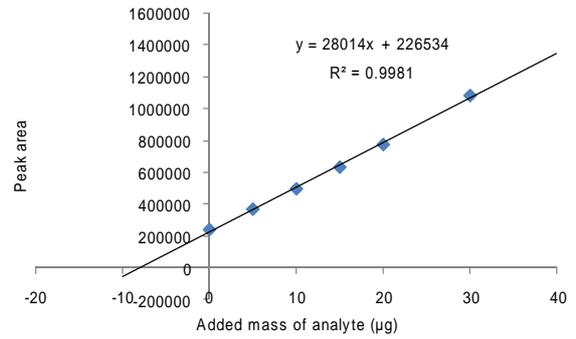
| | Two-point calibration | | | | Three-point calibration | | Four-point calibration | | Five-point calibration | |
|-----------------|-----------------------|--------|---------------------|--------|-------------------------|--------|--------------------------|--------|-----------------------------|--------|
| | 5+10 ¹⁾ | | 10+20 ¹⁾ | | 5+10+20 ¹⁾ | | 5+10+20+30 ¹⁾ | | 5+10+15+20+30 ¹⁾ | |
| | Ave. | RSD(%) | Ave. | RSD(%) | Ave. | RSD(%) | Ave. | RSD(%) | Ave. | RSD(%) |
| Acetochlor | 10.9 | 9.4 | 8.6 | 5.8 | 8.3 | 7.0 | 7.8 | 5.3 | 7.9 | 6.8 |
| Aldrin | 10.2 | 7.2 | 8.9 | 1.1 | 9.0 | 1.9 | 8.6 | 7.9 | 8.7 | 6.5 |
| Atrazine | 9.6 | 12.2 | 8.7 | 5.6 | 8.5 | 4.4 | 8.9 | 4.0 | 8.9 | 4.0 |
| Azaconazole | 9.1 | 3.1 | 8.1 | 4.3 | 7.8 | 6.4 | 7.6 | 4.5 | 8.1 | 7.2 |
| Azoxystrobin | 10.1 | 7.0 | 8.4 | 10.2 | 8.1 | 12.0 | 7.6 | 6.9 | 7.7 | 3.6 |
| -BHC | 10.4 | 14.2 | 8.7 | 6.3 | 8.5 | 7.4 | 8.4 | 8.7 | 9.1 | 4.9 |
| Chlorpyrifos | 9.5 | 5.0 | 8.2 | 5.9 | 8.1 | 7.7 | 7.3 | 17.8 | 7.6 | 21.0 |
| Cypermethrin | 9.5 | 4.9 | 8.4 | 6.4 | 8.2 | 6.5 | 8.1 | 4.0 | 8.0 | 12.6 |
| Cyproconazole | 9.2 | 7.2 | 8.2 | 5.4 | 7.9 | 7.8 | 7.7 | 3.6 | 7.7 | 2.4 |
| p,p'-DDT | 9.8 | 13.1 | 7.3 | 5.7 | 7.2 | 7.5 | 6.7 | 3.5 | 7.0 | 6.1 |
| EPN | 9.7 | 12.8 | 8.3 | 7.6 | 8.0 | 6.8 | 7.8 | 3.0 | 8.0 | 2.2 |
| Epoxiconazole | 9.1 | 7.0 | 8.0 | 5.8 | 7.8 | 5.2 | 7.7 | 5.1 | 8.0 | 1.7 |
| Ethion | 9.2 | 7.2 | 7.9 | 7.1 | 7.6 | 7.2 | 7.3 | 6.4 | 7.6 | 3.0 |
| Fluvalinate | 9.2 | 5.5 | 8.1 | 5.9 | 8.0 | 6.9 | 7.8 | 1.9 | 8.0 | 3.1 |
| Isoprocarb | 10.2 | 7.9 | 9.0 | 6.0 | 8.8 | 6.7 | 8.7 | 4.9 | 9.0 | 1.6 |
| Lenacil | 9.9 | 11.7 | 8.4 | 13.4 | 8.2 | 13.1 | 8.0 | 5.5 | 8.2 | 5.5 |
| Malathion | 8.8 | 9.1 | 7.7 | 9.7 | 7.5 | 8.2 | 7.9 | 5.0 | 8.2 | 1.5 |
| Myclobutanil | 9.5 | 6.1 | 8.2 | 2.0 | 7.9 | 2.3 | 7.9 | 6.5 | 8.2 | 0.6 |
| Propour | 9.8 | 8.2 | 7.9 | 7.3 | 7.8 | 7.5 | 7.5 | 6.4 | 7.7 | 1.1 |
| Simeconazole | 8.4 | 7.2 | 8.0 | 8.6 | 7.8 | 10.2 | 8.1 | 9.9 | 8.6 | 4.1 |
| Thiobencarb | 9.1 | 17.3 | 7.6 | 4.7 | 7.4 | 7.1 | 8.1 | 3.8 | 8.1 | 3.7 |
| Triallate | 9.6 | 10.0 | 8.6 | 7.4 | 8.5 | 6.9 | 8.2 | 3.5 | 8.4 | 2.2 |
| Trifloxystrobin | 8.8 | 11.5 | 7.9 | 11.3 | 7.6 | 5.9 | 8.0 | 6.4 | 8.5 | 3.1 |

1) 添加量 (ng)

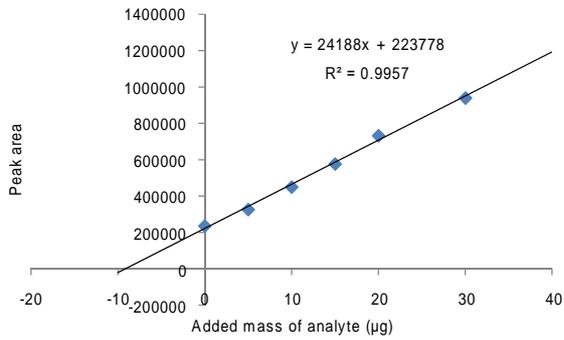
Acetochlor



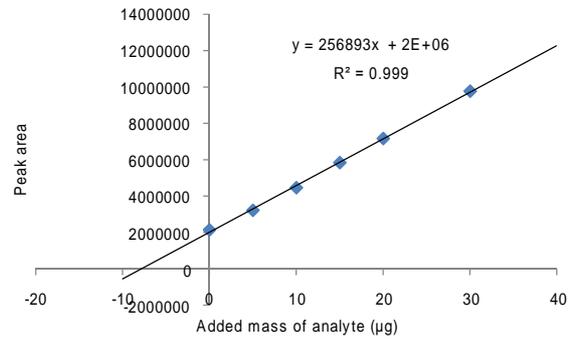
Aldrin



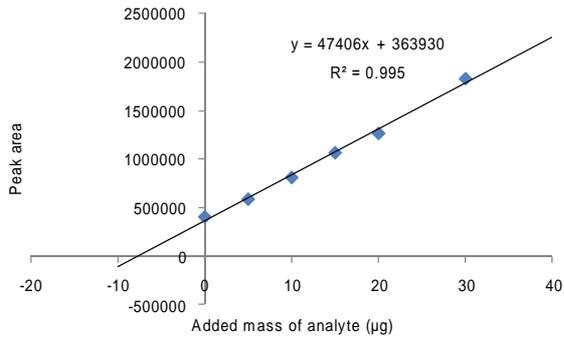
Atrazine



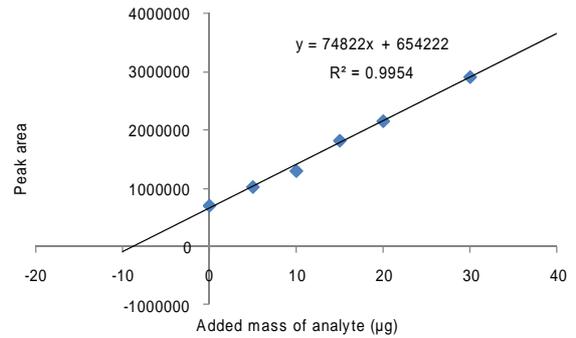
Azaconazole



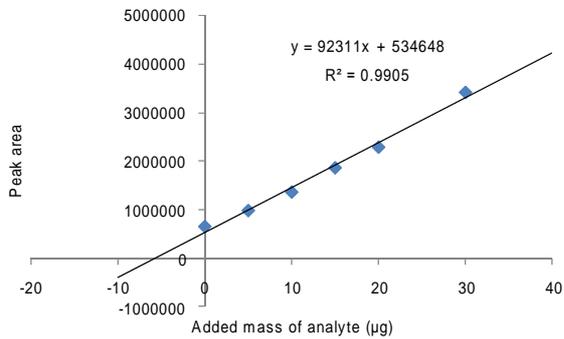
Azoxystrobin



γ-BHC



Chlorpyrifos



Cypermethrin

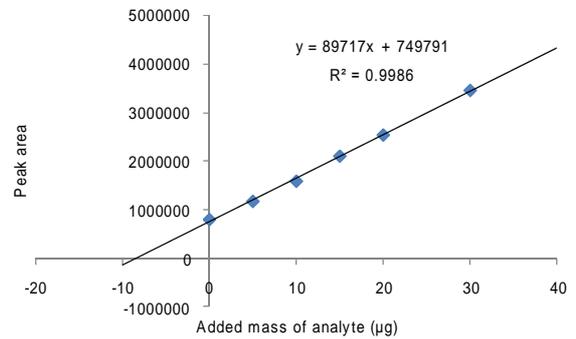
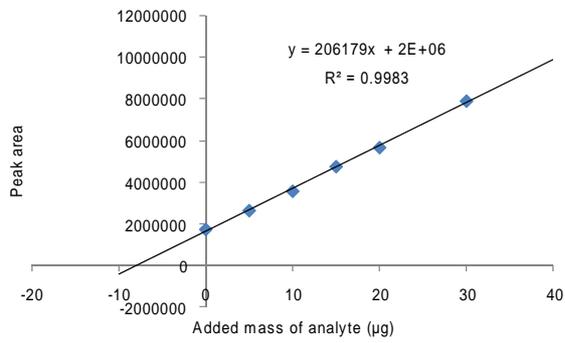
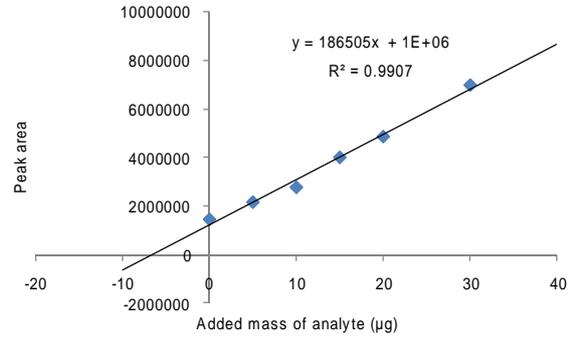


図1 標準添加法での検量線(初期濃度 10 ng/mL、大豆)

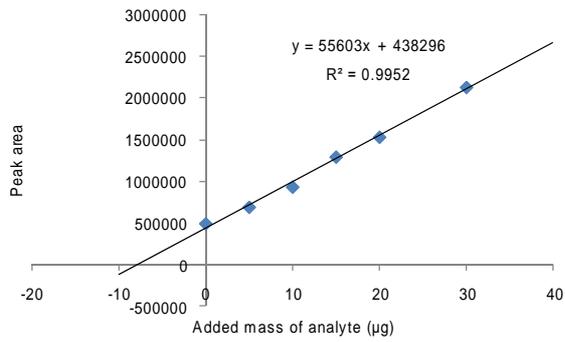
Cyproconazole



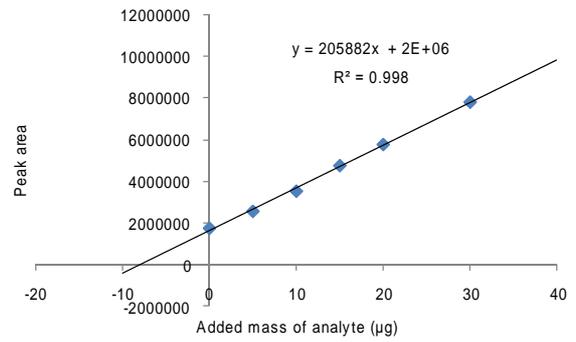
p,p'-DDT



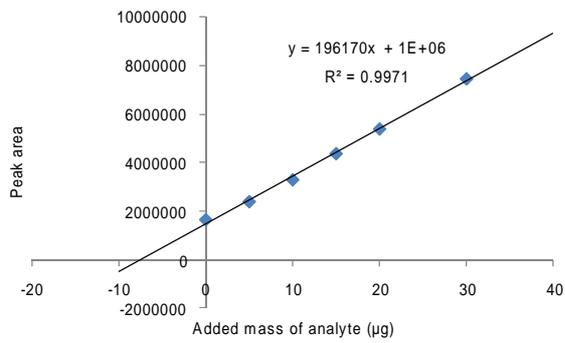
EPN



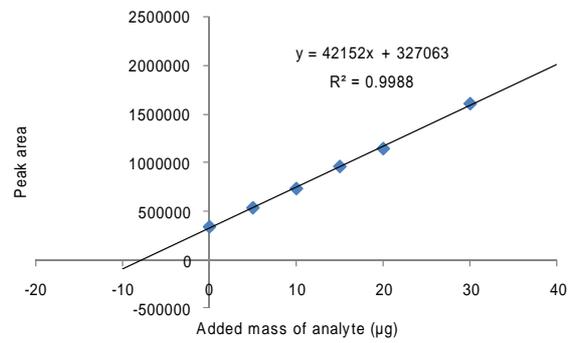
Epoxiconazole



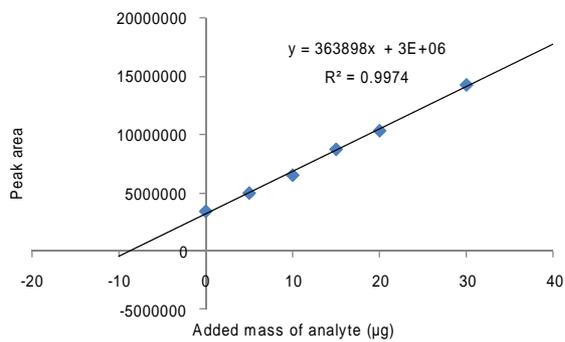
Ethion



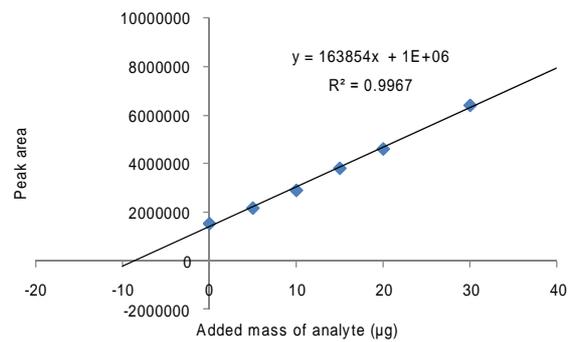
Fluvalinate



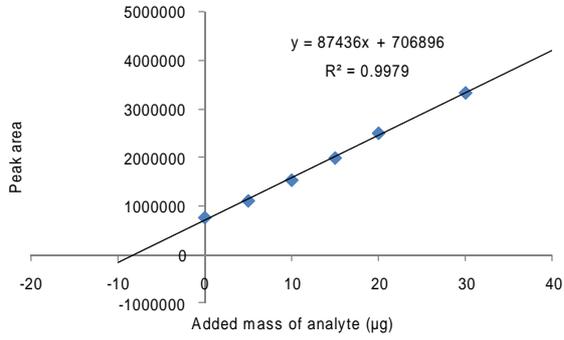
Isoprocarb



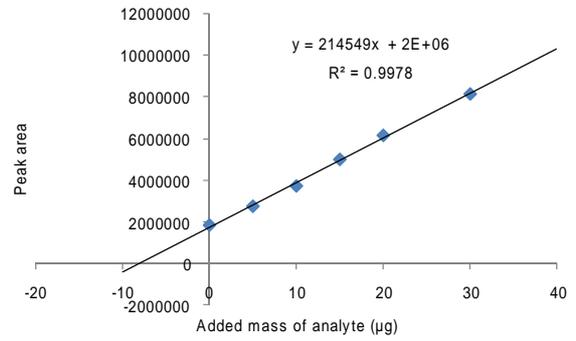
Lenacil



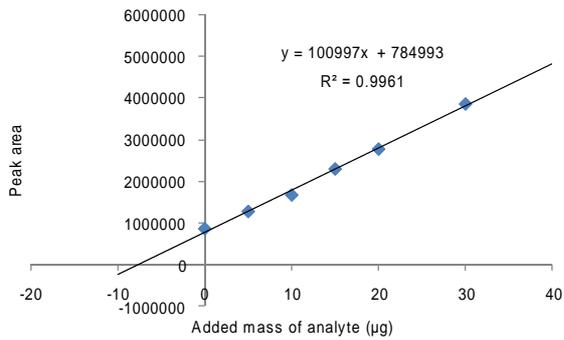
Malathion



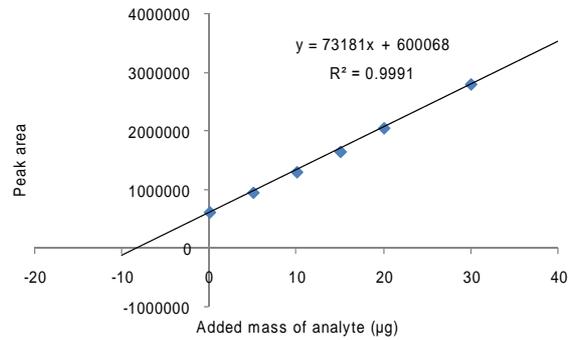
Myclobutanil



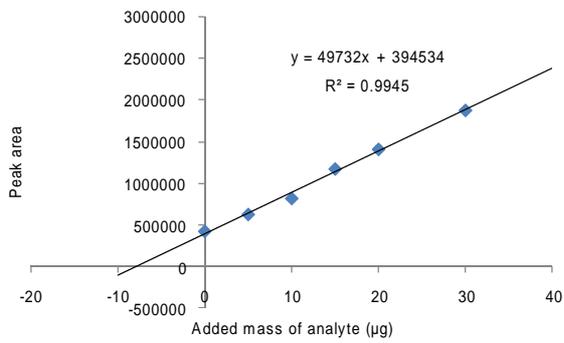
Propoxur



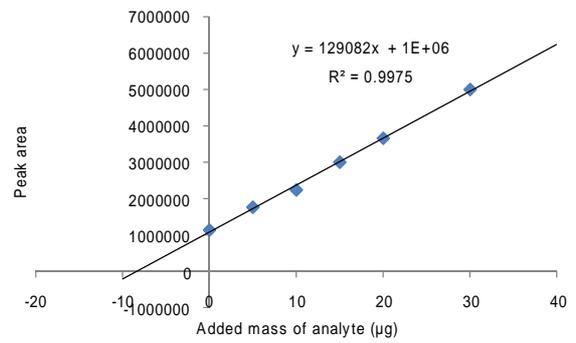
Simeconazole



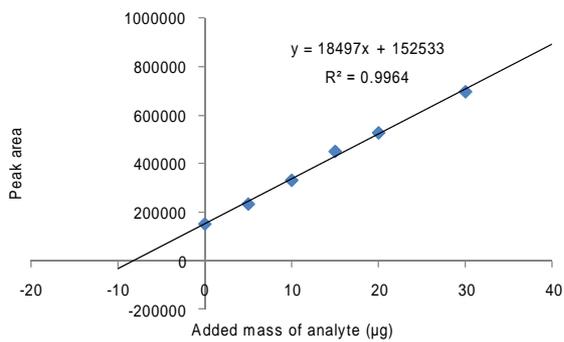
Thiobencarb



Tri-allate



Trifloxystrobin



. 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 齊籐静夏

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 25 年度分担研究報告書

2. 効率的・網羅的な分析法の開発

研究分担者 齊藤静夏 国立医薬品食品衛生研究所 食品部主任研究官
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

残留農薬分析に適した飛行時間型質量分析計(LC-(Q)TOF-MS、GC-TOF-MS)を用いた効率的・網羅的な分析法の検討を行った。LC-(Q)TOF-MS 法の検討では、残留農薬分析に適した測定条件及び定量解析条件を確立し、フラグメントイオンによる確認方法についても検討した。151 農薬を用いてピーク面積の再現性や検量線の直線性について評価したところ、9 割以上で良好な結果が得られた。GC-TOF-MS 法の検討では、ほうれんそう及び玄米のマトリックス標準溶液を用いて定量解析条件を確立した。184 農薬について定量性、選択性、検出限界、検量線の直線性について評価したところ、検討農薬の約 9 割で良好な結果が得られた。

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 800 品目の農薬等に基準値が設定されている。食品の安全確保のためには、これらの膨大な数の品目について精確かつ効率的に分析値を求める必要がある。

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、化合物ごとに測定イオンや MS パラメーターを設定する必要があり、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。

本研究では、「効率的・網羅的な分析法」について検討を行った。すなわち、網羅的な測定が可能な飛行時間型質量分析計を用いた方法(LC-(Q)TOF-MS 法及び GC-TOF-MS 法)を残留農薬分析に適用するため、本年度は残留農薬一斉分析に適した LC-(Q)TOF-MS 及び GC-TOF-MS の測定条件及び定量解析条件を確立し、定量性や選択性等について評価したの

で報告する。

B. 研究方法

. LC-QTOF-MS 法の検討

1. 試料

市販のキャベツをフードカッターで細切均一化したものを用いた。

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を用いた。

(2) 農薬標準品及び標準溶液

検討には表1に示した151化合物を用いた。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)、Sigma-Aldrich社、Dr. Ehrenstorfers社及び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。混合標準溶液は、各農薬の標準原液を混合し、メタノールで適宜希釈して調製した。

(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(担体量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、ジーエルサイエンス社製のInertSep GC/PSA(充てん量500mg/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

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。LC-QTOF-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。

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 ; 脱溶媒ガス温度 450 ; 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 μ m、ジーエルサイエンス社製); カラム温度 40 ; 注入量 3 μ 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1に示した。

5. 試験溶液の調製

通知「農薬等のLC-MS一斉試験法」において、以下の～をを変更した以外は試験法に従って試験溶液を調製した。

塩析後、遠心分離(毎分3000回転、5分間)を行った。

ODSミニカラム精製(溶出溶媒: アセトニトリル5 mL)を追加した。

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20.0 gを量り採った。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(pH7.0)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 回容器を洗浄した)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 1.0 g/mL)とした。

6.マトリックス標準溶液の調製

ブランク試験溶液 100 µL をバイアルに採り、窒素を吹き付けて乾固した後、残留物を 0.01 (試料中濃度 0.01 ppm 相当)の混合標準溶液 100 µL に溶解した。

7. 検量線

標準溶液(0.002、0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5 µg/mL)を調製し、それぞれ 3 µL を LC-QTOF-MS に注入して、ピーク面積法で検量線を作成した。

2. GC-TOF-MS 法の検討

1. 試料

市販のほうれんそう及び玄米を用いた。ほうれんそうはフードカッターで細切均一化したものを用いた。玄米は遠心粉砕機で粉砕して、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、アセトン、トルエン及びヘキサンは関東化学(株)製の

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。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。

(2) 農薬標準品及び標準溶液

検討には表 2 に示した 184 化合物を用いた。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)、Sigma-Aldrich 社、Dr. Ehrenstorfers 社及び 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、ヘキサン(ヘキサンへの溶解性が低い場合はアセトン/ヘキサンの混合溶媒)10 mL に溶解して調製した。混合標準溶液は、各農薬の標準原液を混合し、アセトン/ヘキサン(1:1)で適宜希釈して調製した。

(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(担体量 1000 mg)を用いた。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(NH₂)積層ミニカラムは、ジーエルサイエンス社製の InertSep GC/NH₂(充てん量 500mg/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(K₂HPO₄)52.7 g 及びリン酸二水素カリウム(KH₂PO₄)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

遠心粉砕機は Retsch 社製 ZM200、ホモジナイザーは Kinematica 社製 Polytron PT 10-35 GT を用いた。GC-TOF-MS は、JMS-T100GCV(日本電子(株)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工器

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。

4. 測定条件

カラム DB-5ms(内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μ 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ライナーに石英ウールを充填したものの; カラム温度 50 (1 min) - 25 /min - 125 (0 min) - 10 /min - 300 (8.5 min); 注入口温度 250 ; トランスファーライン温度 300 ; イオン源温度 230 ; キャリヤーガスヘリウム; キャリヤーガス流量 1 mL/min; 注入量 2 μ L; イオン化法 EI(+); スキャン範囲 m/z 50-550; 定量イオン及び保持時間 表 2 に示した。

5. ブランク試験溶液の調製

通知「農薬等の GC-MS 一斉試験法」において、及び を変更した以外は試験法に従って試験溶液を調製した。

塩析後、遠心分離(毎分 3000 回転、5 分間)を行った。

ほうれんそうにおいて ODS ミニカラム精製を追加した。また、ODS ミニカラム精製の溶出溶媒量を 5 mL とした。

(1) 抽出

ほうれんそうの場合は、試料 20.0 g を量り採った。玄米の場合は、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 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/ NH_2 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 回容器を洗浄した)を注入した。全溶出液を採り、40 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、残留物をアセトン/ヘキサン(1:1)に溶解(ほうれんそうの場合は 2 mL、玄米の場合は 1 mL)して試験溶液(試料 2.0 g/mL)とした。

6. マトリックス標準溶液の調製

ブランク試験溶液 100 μ L をバイアルに採り、窒素を吹き付けて乾固した後、残留物を 0.01 (試料中濃度 0.005 ppm 相当)または 0.1 μ g/mL (試料中濃度 0.05 ppm 相当)の混合標準溶液 100 μ L に溶解した。

7. 検量線の作成

低濃度(0.0025, 0.005, 0.0075, 0.01, 0.0125, 0.015 μ g/mL)及び高濃度(0.025, 0.05, 0.075, 0.1, 0.125, 0.15 μ g/mL)の標準溶液をアセトン/ヘキサン(1:1)で調製し、それぞれ 2 μ L を GC-TOF-MS に注入して、ピーク面積法で検量線を作成した。

C. 研究結果及び考察

. LC-QTOF-MS 法の検討

1. 測定条件の検討

農薬は様々な構造や分子量を持つことから、各農薬に最適な TOF-MS 条件は異なると予想される。しかしながら、TOF-MS による測定では、原則として化合物ごとにコーン電圧やキャピラリー電圧等の MS パラメーターを設定することは困難である。したがって、LC-TOF-MS を用いて残

留農薬の一斉分析を行う際には、幅広い農薬に適した代表的な TOF-MS 条件を設定する必要がある。そこで、用いた TOF-MS 装置で設定可能であり、且つ、化合物により最適値が異なると予想されたキャピラリー電圧、コーン電圧及びコリジョンエネルギーの 3 種類のパラメーターについて最適化を行った。

まず、キャピラリー電圧について検討した。キャピラリー電圧 500 ~ 3000 V の範囲で、各農薬のピーク面積への影響を検討した。コーン電圧は 20 V、コリジョンエネルギーは 4 eV に設定した。検討には農薬の分子量範囲を想定して分子量約 200 から 700 の 6 農薬を用いた(図 1)。その結果、検討した農薬は 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減少した。この結果から、本研究ではキャピラリー電圧を 1000 V に設定して測定することとした。

次に、コーン電圧について検討した。キャピラリー電圧は 1000 V、コリジョンエネルギーは 4 eV に設定し、コーン電圧を 10 ~ 120 V の範囲で検討した。その結果、検討した農薬は 10 ~ 40 V でピーク面積が最大となった(図 2)。アクリナトリンは 40 V 以上でピーク面積が減少したことから、コーン電圧を 20 V に設定することとした。

コリジョンエネルギーの検討を行った。キャピラリー電圧は 1000 V、コーン電圧は 20 V に設定して、コリジョンエネルギーを 0 ~ 50 V の範囲で検討した。その結果、検討した農薬は 0 ~ 8 eV でピーク面積が最大となり、フラグメンテーションを起こしやすい農薬では 8 eV 以上でピーク面積が大幅に減少した(図 3)。また、エチオンなど一部の農薬では、0 eV にしてもピーク面積が減少したことから、定量イオンの測定では 4 eV に設定することとした。

2. 確認方法の検討

LC-QTOF-MS 法を用いた主な確認方法としては、プロダクトイオンスキャン(MS/MS スキャン)測定や、フラグメントイオン及び同位体イオンの測定(MS スキャン)がある。本研究では、フラグメ

ントイオン及び同位体イオンによる確認方法の検討を行った。

(1) フラグメントイオン測定のためのコリジョンエネルギーの最適化

まず、フラグメントイオンを測定するためのコリジョンエネルギーの最適化を行った。図 4 にアゾキシストロピン ($[M+H]^+$, m/z 404.1241) のピーク面積の最大値を 100%としたときのフラグメントイオン Fr.1 ($[C_{21}H_{14}N_3O_4]^+$, m/z 372.0979) 及び Fr.2 ($[C_{19}H_{11}N_3O_3]^+$, m/z 329.0795) のピーク面積比を示した。その結果、Fr.1 及び Fr.2 は、それぞれ 10 及び 30 eV でピーク面積が最大となった。そのほかの農薬についても、主なフラグメントイオンのピーク面積は 10 ~ 40 eV で最大となるものが多かった。これらの結果から、定量イオンは 4 eV に測定し、フラグメントイオンは 10 ~ 40 eV の範囲で走査して測定を行うこととした。なお、定量イオンとフラグメントイオンは同時に測定を行うことにした。

(2) フラグメントイオン及び同位体イオンによる確認

フラグメントイオン及び同位体イオンを用いた確認方法について、151 農薬を用いて検討した。なお、同位体イオンの測定においては、コリジョンエネルギーは 4 eV に設定した。標準溶液 0.01 $\mu\text{g/mL}$ (試料中濃度 0.01 ppm 相当)を測定した結果、フラグメントイオンまたは同位体イオンを 1 つ以上検出できた農薬 ($S/N > 10$) は約 93% (140 化合物)となり、一律基準相当濃度においても検討農薬のほとんどで検出することができた。しかしながら、フラグメントイオンの測定では、同じ部分構造を有する農薬同士の保持時間が近接していると、フラグメントイオンが重なる場合があり(図 5)、確認方法としては不十分と考えられた。これに対し、プロダクトイオンスキャンや LC-MS/MS での SRM 測定は、プリカーサーイオンとプロダクトイオンの組み合わせで検出を行う方法であることから、同じ部分構造を有する化合物についても分離を行うことができるため、フラグメントイオンの測定よりも選択性が高いと考えら

れる。したがって、確認の際にはプロダクトイオンスキャンや LC-MS/MS での SRM 測定等の他の方法で行う方が良いと考えられた。

3. 抽出質量幅

抽出質量幅を狭くすると選択性は向上するが、過剰に狭くすると測定精密質量のわずかなずれにより定量性が低下する可能性があり、低感度の化合物では検出できなくなるおそれもある。そこで、最適な抽出質量幅を検討した。

溶媒標準溶液 (0.05 µg/mL) を 5 回繰り返し測定し、抽出質量幅を 2、5、10 及び 20 mDa に設定してピーク面積の変動を比較した。その結果、2 mDa では検討農薬のほとんどで RSD 5% となったのに対し、5 mDa 以上では検討農薬の大部分で RSD < 5% となった (図 6)。

図 7 にキャベツのマトリックス標準溶液 (試料中濃度 0.01 ppm 相当) 中のイマザリル ($[M+H]^+$, m/z 297.0556) の抽出イオンクロマトグラムを示した。質量幅 1、10、20 及び 100 mDa を比較したところ、質量幅が狭いほど選択性が高くなったが、1 mDa まで狭めるとピークがかけた。10 mDa と 20 mDa を比較すると、10 mDa の方がノイズレベルが下がり、S/N 比が向上した。これらの結果から、定量性及び選択性が良く、且つ、S/N 比も良い 10 mDa に設定して定量を行うこととした。

4. 検量線

標準溶液 (0.001 ~ 0.5 µg/mL) を測定し、検量線を作成した。その結果、検討した 151 農薬のうち、 r^2 0.99 となる濃度範囲は、0.001 ~ 0.5 µg/mL 8 農薬、0.001 ~ 0.2 µg/mL 47 農薬、0.001 ~ 0.1 µg/mL 96 農薬 (Acetamiprid 及び Methidathion は 0.002 ~ 0.2 µg/mL、Indanofan、Iprovalicarb、Methiocarb 及び Triadimenol は 0.002 ~ 0.1 µg/mL、Chromafenozide、Fludioxonil、Kresoxim-methyl 及び Pentoxazone は 0.005 ~ 0.1 µg/mL) となり、0.1 µg/mL 以下の濃度では検討農薬の大部分で良好な直線性が得られた。 $(r^2 < 0.99$ となったのは Fenoxycarb、Fludioxonil 及び Methiocarb の 3 農薬のみであった。) しかしながら、0.1 µg/mL を超える濃度で

は、検討農薬のほとんどで飽和してしまうため、試験溶液を希釈して測定する必要があると考えられた。

・GC-TOF-MS 法の検討

GC-TOF-MS 法の残留農薬一斉分析への適用性を検討するため、溶媒標準溶液及びマトリックス標準溶液を用いて定量性、選択性、検出限界、検量線の直線性について検討した。

1. ピーク面積の再現性及び選択性

試料中濃度 0.005 ppm 及び 0.05 ppm 相当のマトリックス標準溶液を 5 回測定し、抽出質量幅を 10、20、50 及び 100 mDa に設定して、ピーク面積の変動を比較した (表 3 及び図 8)。

(1) 抽出質量幅を 10 mDa または 20 mDa に設定した場合

いずれの場合も定量を妨害するピークは観測されず、選択性に問題はなかった。10 mDa では、ほうれんそう 8 農薬、玄米 5 農薬で RSD > 20% となった。20 mDa では、玄米において 1 農薬 (bromobutide) のみで RSD > 20% となった。また、ほうれんそう中の chlorfenson 及び chlorthal dimethyl、玄米中の chlorthal dimethyl 及び trifloxystrobin は検出されなかった。これは、測定精密質量と計算精密質量とのずれが、検討した質量幅よりも大きかったことが原因と考えられた。

(2) 抽出質量幅を 50 mDa に設定した場合

ほうれんそう中の mepronil で定量を妨害するピークが認められたものの (図 9)、その他の農薬については選択性に問題はなかった。

(3) 抽出質量幅を 100 mDa に設定した場合

抽出質量幅を 100 mDa に設定した場合は、10 または 20 mDa に設定した場合と比較してノイズレベルが高くなり (図 10)、感度不足となる農薬が多かった。また、ほうれんそうにおいて 4 農薬 (cafenstrole、mecarbam、mepronil、metalaxyl) で定量を妨害するピークが認められた。

(1) ~ (3) の結果から、ピーク面積の再現性や選択性が良く、且つ、S/N 比も良い 20 ~ 50 mDa

に設定して定量を行うのが良いと考えられた。

2. 検出限界

試料中濃度 0.005 ppm (低感度の農薬は 0.05 ppm) のマトリックス標準溶液を 5 回測定し、抽出質量幅を 50 mDa に設定してピーク面積を求め、 3σ 値から検出限界 (LOD) 濃度を算出した (表 3)。その結果、ほうれんそうでは 2 農薬 (bifenox 及び cyfluthrin)、玄米では 8 農薬 (acrinathrin、bromobutide、buprofezin、cyfluthrin、cyhalothrin、cypermethrin、permethrin 及び phenothrin) を除き、0.01 ppm 未満であった。

3. 検量線

高濃度 (0.025 ~ 0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 及び低濃度 (0.0025 ~ 0.015 $\mu\text{g}/\text{mL}$) の標準溶液を測定し、検量線を作成した。その結果、高濃度では検討した全ての農薬で r^2 0.993 となり、良好な直線性が得られた。低濃度では、6 農薬 (bifenox、cyfluthrin、fenpropathrin、fosthiazate、phosphamidon 及び phosphamidon) で $r^2 < 0.99$ となったものの、その他の農薬では良好な直線性が得られた。

D. 結論

・LC-TOF-MS 法の検討

残留農薬一斉分析に適した LC-QTOF-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) や定量解析条件を確立した。今後、農薬及び動物用医薬品を対象に LC-TOF-MS を用いて妥当性評価試験を行い、LC-TOF-MS 法の一斉分析への適用性について検討を行う予定である。

・GC-TOF-MS 法の検討

ほうれんそう及び玄米のマトリックス標準溶液を用いて、ピーク面積の再現性や選択性につい

て検討した結果、試料中濃度 0.005ppm 相当 (一律基準の 1/2 濃度、試験溶液の濃縮倍率試料 2 g 相当/mL) においても、検討農薬の約 9 割で良好な結果が得られた。また、0.0025 ~ 0.015 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及び 0.025 ~ 0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で検量線を作成したところ、検討農薬の大部分で良好な直線性が得られた。これらの結果から、GC-TOF-MS を用いて妥当性評価試験を行い、妥当性が示されれば、スクリーニングのみならず、基準値判定にも GC-TOF-MS 法を用いることが可能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 を用いた茶熱湯浸出液中の残留農薬一斉分析法、日本食品化学学会誌、**20**(3)、221-225 (2013)

2. 学会発表

齊藤静夏、根本 了、松田りえ子、手島玲子: 超臨界流体抽出及び GC-MS/MS を用いた野菜・果実中の残留農薬一斉分析の検討、第 50 回全国衛生化学技術協議会年会 (2013.11)

齊藤静夏、根本 了、松田りえ子、手島玲子: LC-MS/MS を用いた茶熱湯浸出液中の残留農薬一斉分析法、第 50 回全国衛生化学技術協議会年会 (2013.11)

齊藤静夏、根本 了、松田りえ子、手島玲子: LC-QTOF-MS を用いた野菜・果実中の残留農薬一斉分析の検討、第 106 回日本食品衛生学会学術講演会 (2013.11)

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 LC-QTOF-MS 法の検討農薬の保持時間及び定量イオン

| 化合物 | 組成式 | | 計算精密質量 (<i>m/z</i>) | 保持時間 (min) |
|---|--|-----------------------------------|--------------------------|---------------|
| Acetamiprid | C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄ | [M+H] ⁺ | 223.0745 | 5.5 |
| Acetochlor | C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂ | [M+H] ⁺ | 270.1256 | 9.3 |
| Acibenzolar- <i>S</i> -methyl | C ₈ H ₆ N ₂ OS ₂ | [M+H] ⁺ | 210.9995 | 9.1 |
| Acrinathrin | C ₂₆ H ₂₁ F ₆ NO ₅ | [M+NH ₄] ⁺ | 559.1663 | 11.0 |
| Ametryn | C ₉ H ₁₇ N ₅ S | [M+H] ⁺ | 228.1278 | 8.8 |
| Anilofos | C ₁₃ H ₁₉ ClNO ₃ PS ₂ | [M+H] ⁺ | 368.0305 | 9.6 |
| Aramite | C ₁₅ H ₂₃ ClO ₄ S | [M+NH ₄] ⁺ | 352.1345 | 10.4 |
| Atrazine | C ₈ H ₁₄ ClN ₅ | [M+H] ⁺ | 216.1011 | 8.1 |
| Azoxystrobin | C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅ | [M+H] ⁺ | 404.1241 | 8.7 |
| Benalaxyl | C ₂₀ H ₂₃ NO ₃ | [M+H] ⁺ | 326.1751 | 9.7 |
| Bendiocarb | C ₁₁ H ₁₃ NO ₄ | [M+H] ⁺ | 224.0918 | 7.1 |
| Benzofenap | C ₂₂ H ₂₀ Cl ₂ N ₂ O ₃ | [M+H] ⁺ | 431.0924 | 10.3 |
| Bitertanol | C ₂₀ H ₂₃ N ₃ O ₂ | [M+H] ⁺ | 338.1863 | 9.8 |
| Boscalid | C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O | [M+H] ⁺ | 343.0400 | 8.7 |
| Bromacil | C ₉ H ₁₃ BrN ₂ O ₂ | [M+H] ⁺ | 261.0233 | 7.1 |
| Buprofezin | C ₁₆ H ₂₃ N ₃ OS | [M+H] ⁺ | 306.1635 | 10.4 |
| Butafenacil | C ₂₀ H ₁₈ ClF ₃ N ₂ O ₆ | [M+NH ₄] ⁺ | 492.1144 | 9.1 |
| Cadusafos | C ₁₀ H ₂₃ O ₂ PS ₂ | [M+H] ⁺ | 271.0950 | 10.0 |
| Carbaryl | C ₁₂ H ₁₁ NO ₂ | [M+H] ⁺ | 202.0863 | 7.3 |
| Carpropamid | C ₁₅ H ₁₈ Cl ₃ NO | [M+H] ⁺ | 334.0527 | 9.6 |
| Chlorfenvinphos (<i>E</i> , <i>Z</i>) | C ₁₂ H ₁₄ Cl ₃ O ₄ P | [M+H] ⁺ | 358.9768 | 9.7, 9.8 |
| Chloridazon | C ₁₀ H ₈ ClN ₃ O | [M+H] ⁺ | 222.0429 | 5.6 |
| Chloroxuron | C ₁₅ H ₁₅ ClN ₂ O ₂ | [M+H] ⁺ | 291.0895 | 9.0 |
| Chlorpyrifos | C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS | [M+H] ⁺ | 351.9307 | 10.7 |
| Chlorpyrifos methyl | C ₇ H ₇ Cl ₃ NO ₃ PS | [M+H] ⁺ | 321.9023 | 10.1 |
| Chromafenozide | C ₂₄ H ₃₀ N ₂ O ₃ | [M+H] ⁺ | 395.2329 | 9.2 |
| Clomeprop | C ₁₆ H ₁₅ Cl ₂ NO ₂ | [M+H] ⁺ | 324.0553 | 10.4 |
| Cloquintocet mexyl | C ₁₈ H ₂₂ ClNO ₃ | [M+H] ⁺ | 336.1361 | 10.5 |
| Clothianidin | C ₆ H ₈ ClN ₅ O ₂ S | [M+H] ⁺ | 250.0160 | 5.0 |
| Cumyluron | C ₁₇ H ₁₉ ClN ₂ O | [M+H] ⁺ | 303.1259 | 9.0 |
| Cyanazine | C ₉ H ₁₃ ClN ₆ | [M+H] ⁺ | 241.0963 | 6.9 |
| Cyazofamid | C ₁₃ H ₁₃ ClN ₄ O ₂ S | [M+H] ⁺ | 325.0521 | 9.3 |
| Cycloprothrin | C ₂₆ H ₂₁ Cl ₂ NO ₄ | [M+NH ₄] ⁺ | 499.1187 | 10.9 |
| Cyflufenamid | C ₂₀ H ₁₇ F ₅ N ₂ O ₂ | [M+H] ⁺ | 413.1283 | 9.8 |
| Cyproconazole | C ₁₅ H ₁₈ ClN ₃ O | [M+H] ⁺ | 292.1211 | 8.8, 9.0 |
| Cyprodinil | C ₁₄ H ₁₅ N ₃ | [M+H] ⁺ | 226.1339 | 9.9 |
| Daimuron | C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O | [M+H] ⁺ | 269.1649 | 8.9 |
| Deltamethrin | C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃ | [M+NH ₄] ⁺ | 523.0052 | 11.0 |
| Diazinon | C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS | [M+H] ⁺ | 305.1083 | 9.8 |
| Difenoconazole | C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₃ | [M+H] ⁺ | 406.0720 | 10.0 |
| Diflubenzuron | C ₁₄ H ₉ ClF ₂ N ₂ O ₂ | [M+H] ⁺ | 311.0394 | 9.3 |
| Diflufenican | C ₁₉ H ₁₁ F ₅ N ₂ O ₂ | [M+H] ⁺ | 395.0814 | 10.1 |
| Dimethirimol | C ₁₁ H ₁₉ N ₃ O | [M+H] ⁺ | 210.1601 | 7.8 |
| Dimethoate | C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂ | [M+H] ⁺ | 230.0069 | 5.4 |
| Dimethomorph (<i>E</i> , <i>Z</i>) | C ₂₁ H ₂₂ ClNO ₄ | [M+H] ⁺ | 388.1310 | 8.6, 8.8 |
| Diuron | C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O | [M+H] ⁺ | 233.0243 | 8.1 |
| Edifenphos | C ₁₄ H ₁₅ O ₂ PS ₂ | [M+H] ⁺ | 311.0324 | 9.7 |
| Epoxiconazole | C ₁₇ H ₁₃ ClFN ₃ O | [M+H] ⁺ | 330.0804 | 9.2 |
| Ethion | C ₉ H ₂₂ O ₄ P ₂ S ₄ | [M+H] ⁺ | 384.9949 | 10.6 |

表 1 (つづき)

| 化合物 | 組成式 | | 計算精密質量 (m/z) | 保持時間 (min) |
|---------------------------|---|-----------------------------------|---------------------|---------------|
| Ethiprole | C ₁₃ H ₉ Cl ₂ F ₃ N ₄ OS | [M+H] ⁺ | 396.9899 | 8.5 |
| Etoxazole | C ₂₁ H ₂₃ F ₂ NO ₂ | [M+H] ⁺ | 360.1770 | 10.8 |
| Etrimfos | C ₁₀ H ₁₇ N ₂ O ₄ PS | [M+H] ⁺ | 293.0720 | 9.8 |
| Fenamidone | C ₁₇ H ₁₇ N ₃ OS | [M+H] ⁺ | 312.1165 | 8.7 |
| Fenamiphos | C ₁₃ H ₂₂ NO ₃ PS | [M+H] ⁺ | 304.1131 | 10.8 |
| Fenarimol | C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O | [M+H] ⁺ | 331.0400 | 9.2 |
| Fenbuconazole | C ₁₉ H ₁₇ ClN ₄ | [M+H] ⁺ | 337.1215 | 9.2 |
| Fenbucarb | C ₁₂ H ₁₇ NO ₂ | [M+H] ⁺ | 208.1332 | 8.5 |
| Fenoxaprop ethyl | C ₁₈ H ₁₆ ClNO ₅ | [M+H] ⁺ | 362.0790 | 10.3 |
| Fenoxycarb | C ₁₇ H ₁₉ NO ₄ | [M+H] ⁺ | 302.1387 | 9.5 |
| Fenpropathrin | C ₂₂ H ₂₃ NO ₃ | [M+H] ⁺ | 350.1751 | 10.8 |
| Fenpropimorph | C ₂₀ H ₃₃ NO | [M+H] ⁺ | 304.2635 | 11.4 |
| Ferimzone (<i>E, Z</i>) | C ₁₅ H ₁₈ N ₄ | [M+H] ⁺ | 255.1604 | 8.9, 9.0 |
| Fipronil | C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ OS | [M+NH ₄] ⁺ | 453.9726 | 9.3 |
| Flamprop methyl | C ₁₇ H ₁₅ ClFNO ₃ | [M+H] ⁺ | 336.0797 | 9.0 |
| Fludioxonil | C ₁₂ H ₆ F ₂ N ₂ O ₂ | [M+NH ₄] ⁺ | 266.0736 | 8.8 |
| Flufenacet | C ₁₄ H ₁₃ F ₄ N ₃ O ₂ S | [M+H] ⁺ | 364.0738 | 9.1 |
| Fluquinconazole | C ₁₆ H ₈ Cl ₂ FN ₅ O | [M+H] ⁺ | 376.0163 | 9.1 |
| Fluridone | C ₁₉ H ₁₄ F ₃ NO | [M+H] ⁺ | 330.1100 | 8.6 |
| Fluvalinate | C ₂₆ H ₂₂ ClF ₃ N ₂ O ₃ | [M+H] ⁺ | 503.1344 | 11.1 |
| Furametpyr | C ₁₇ H ₂₀ ClN ₃ O ₂ | [M+H] ⁺ | 334.1317 | 7.9 |
| Hexaconazole | C ₁₄ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O | [M+H] ⁺ | 314.0822 | 9.7 |
| Hexaflumuron | C ₁₆ H ₈ Cl ₂ F ₆ N ₂ O ₃ | [M+H] ⁺ | 460.9889 | 10.1 |
| Hexythiazox | C ₁₇ H ₂₁ ClN ₂ O ₂ S | [M+H] ⁺ | 353.1085 | 10.6 |
| Imazalil | C ₁₄ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O | [M+H] ⁺ | 297.0556 | 9.6 |
| Imibenconazole | C ₁₇ H ₁₃ Cl ₃ N ₄ S | [M+H] ⁺ | 412.9971 | 10.4 |
| Indanofan | C ₂₀ H ₁₇ ClO ₃ | [M+H] ⁺ | 341.0939 | 9.3 |
| Indoxacarb | C ₂₂ H ₁₇ ClF ₃ N ₃ O ₇ | [M+H] ⁺ | 528.0780 | 10.0 |
| Iprovalicarb | C ₁₈ H ₂₈ N ₂ O ₃ | [M+H] ⁺ | 321.2173 | 9.1 |
| Isoprocarb | C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ | [M+H] ⁺ | 194.1176 | 7.9 |
| Isoxathion | C ₁₃ H ₁₆ NO ₄ PS | [M+H] ⁺ | 314.0611 | 10.0 |
| Kresoxim methyl | C ₁₈ H ₁₉ NO ₄ | [M+H] ⁺ | 314.1387 | 9.6 |
| Lactofen | C ₁₉ H ₁₅ ClF ₃ NO ₇ | [M+NH ₄] ⁺ | 479.0828 | 10.3 |
| Linuron | C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂ | [M+H] ⁺ | 249.0192 | 8.7 |
| Lufenuron | C ₁₇ H ₈ Cl ₂ F ₈ N ₂ O ₃ | [M+H] ⁺ | 510.9857 | 10.5 |
| Malathion | C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ | [M+H] ⁺ | 331.0434 | 9.1 |
| Mepanipyrim | C ₁₄ H ₁₃ N ₃ | [M+H] ⁺ | 224.1182 | 9.4 |
| Metalaxyl | C ₁₅ H ₂₁ NO ₄ | [M+H] ⁺ | 280.1544 | 8.0 |
| Methabenzthiazuron | C ₁₀ H ₁₁ N ₃ OS | [M+H] ⁺ | 222.0696 | 8.1 |
| Methidathion | C ₆ H ₁₁ N ₂ O ₄ PS ₃ | [M+H] ⁺ | 302.9692 | 8.4 |
| Methiocarb | C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ S | [M+H] ⁺ | 226.0896 | 8.7 |
| Metolachlor | C ₁₅ H ₂₂ ClNO ₂ | [M+H] ⁺ | 284.1412 | 9.4 |
| Monolinuron | C ₉ H ₁₁ ClN ₂ O ₂ | [M+H] ⁺ | 215.0582 | 7.7 |
| Myclobutanil | C ₁₅ H ₁₇ ClN ₄ | [M+H] ⁺ | 289.1215 | 8.8 |
| Naproanilide | C ₁₉ H ₁₇ NO ₂ | [M+H] ⁺ | 292.1332 | 9.5 |
| Napropamide | C ₁₇ H ₂₁ NO ₂ | [M+H] ⁺ | 272.1645 | 9.3 |
| Norflurazon | C ₁₂ H ₉ ClF ₃ N ₃ O | [M+H] ⁺ | 304.0459 | 8.3 |
| Novaluron | C ₁₇ H ₉ ClF ₈ N ₂ O ₄ | [M+H] ⁺ | 493.0196 | 10.1 |
| Oxadixyl | C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₄ | [M+H] ⁺ | 279.1340 | 6.6 |
| Oxaziclomefone | C ₂₀ H ₁₉ Cl ₂ NO ₂ | [M+H] ⁺ | 376.0866 | 10.3 |
| Paclobutrazol | C ₁₅ H ₂₀ ClN ₃ O | [M+H] ⁺ | 294.1368 | 8.7 |

表 1 (つづき)

| 化合物 | 組成式 | | 計算精密質量 (<i>m/z</i>) | 保持時間 (min) |
|--------------------|---|-----------------------------------|--------------------------|---------------|
| Penconazole | C ₁₃ H ₁₅ Cl ₂ N ₃ | [M+H] ⁺ | 284.0716 | 9.5 |
| Pencycuron | C ₁₉ H ₂₁ ClN ₂ O | [M+H] ⁺ | 329.1415 | 9.9 |
| Pentoxazone | C ₁₇ H ₁₇ ClFNO ₄ | [M+H] ⁺ | 354.0903 | 10.3 |
| Phenmedipham | C ₁₆ H ₁₆ N ₂ O ₄ | [M+H] ⁺ | 301.1183 | 8.3 |
| Phenthoate | C ₁₂ H ₁₇ O ₄ PS ₂ | [M+H] ⁺ | 321.0379 | 9.6 |
| Phosalone | C ₁₂ H ₁₅ ClNO ₄ PS ₂ | [M+H] ⁺ | 367.9942 | 9.8 |
| Phosphamidon | C ₁₀ H ₁₉ ClNO ₅ P | [M+H] ⁺ | 300.0762 | 6.7 |
| Piperonyl butoxide | C ₁₉ H ₃₀ O ₅ | [M+NH ₄] ⁺ | 356.2432 | 10.6 |
| Pirimicarb | C ₁₁ H ₁₈ N ₄ O ₂ | [M+H] ⁺ | 239.1503 | 7.9 |
| Pirimiphos methyl | C ₁₁ H ₂₀ N ₃ O ₃ PS | [M+H] ⁺ | 306.1036 | 10.0 |
| Prochloraz | C ₁₅ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂ | [M+H] ⁺ | 376.0381 | 9.8 |
| Profenofos | C ₁₁ H ₁₅ BrClO ₃ PS | [M+H] ⁺ | 374.9402 | 10.3 |
| Prometryn | C ₁₀ H ₁₉ N ₅ S | [M+H] ⁺ | 242.1434 | 9.3 |
| Propachlor | C ₁₁ H ₁₄ ClNO | [M+H] ⁺ | 212.0837 | 8.1 |
| Propanil | C ₉ H ₉ Cl ₂ NO | [M+H] ⁺ | 218.0134 | 8.6 |
| Propaquizafop | C ₂₂ H ₂₂ ClN ₃ O ₅ | [M+H] ⁺ | 444.1321 | 10.4 |
| Propargite | C ₁₉ H ₂₆ O ₄ S | [M+NH ₄] ⁺ | 368.1891 | 10.7 |
| Propiconazole | C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂ | [M+H] ⁺ | 342.0771 | 9.6 |
| Propyzamide | C ₁₂ H ₁₁ Cl ₂ NO | [M+H] ⁺ | 256.0291 | 8.9 |
| Pyraclufos | C ₁₄ H ₁₈ ClN ₂ O ₃ PS | [M+H] ⁺ | 361.0537 | 9.8 |
| Pyraclostrobin | C ₁₉ H ₁₈ ClN ₃ O ₄ | [M+H] ⁺ | 388.1059 | 9.9 |
| Pyrazophos | C ₁₄ H ₂₀ N ₃ O ₅ PS | [M+H] ⁺ | 374.0934 | 10.1 |
| Pyrifthalid | C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₄ S | [M+H] ⁺ | 319.0747 | 8.7 |
| Pyrimethanil | C ₁₂ H ₁₃ N ₃ | [M+H] ⁺ | 200.1182 | 8.9 |
| Pyriproxyfen | C ₂₀ H ₁₉ NO ₃ | [M+H] ⁺ | 322.1438 | 10.7 |
| Quinalphos | C ₁₂ H ₁₅ N ₂ O ₃ PS | [M+H] ⁺ | 299.0614 | 9.7 |
| Quinoxifen | C ₁₅ H ₈ Cl ₂ FNO | [M+H] ⁺ | 308.0040 | 10.7 |
| Quizalofop ethyl | C ₁₉ H ₁₇ ClN ₂ O ₄ | [M+H] ⁺ | 373.0950 | 10.3 |
| Simazine | C ₇ H ₁₂ ClN ₅ | [M+H] ⁺ | 202.0854 | 7.3 |
| Simeconazole | C ₁₄ H ₂₀ FN ₃ OSi | [M+H] ⁺ | 294.1433 | 9.0 |
| Spinosyn A | C ₄₁ H ₆₅ NO ₁₀ | [M+H] ⁺ | 732.4681 | 11.4 |
| Spinosyn D | C ₄₂ H ₆₇ NO ₁₀ | [M+H] ⁺ | 746.4838 | 11.7 |
| Spiroxamine | C ₁₈ H ₃₅ NO ₂ | [M+H] ⁺ | 298.2741 | 10.3, 10.4 |
| Tebuconazole | C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O | [M+H] ⁺ | 308.1524 | 9.5 |
| Tebufenpyrad | C ₁₈ H ₂₄ ClN ₃ O | [M+H] ⁺ | 334.1681 | 10.4 |
| Tebuthiuron | C ₉ H ₁₆ N ₄ OS | [M+H] ⁺ | 229.1118 | 7.2 |
| Teflubenzuron | C ₁₄ H ₆ Cl ₂ F ₄ N ₂ O ₂ | [M+H] ⁺ | 380.9815 | 10.4 |
| Terbutryn | C ₁₀ H ₁₉ N ₅ S | [M+H] ⁺ | 242.1434 | 9.4 |
| Tetrachlorvinphos | C ₁₀ H ₉ Cl ₄ O ₄ P | [M+H] ⁺ | 366.9037 | 9.4 |
| Tetraconazole | C ₁₃ H ₁₁ Cl ₂ F ₄ N ₃ O | [M+H] ⁺ | 372.0288 | 9.1 |
| Thiacloprid | C ₁₀ H ₉ ClN ₄ S | [M+H] ⁺ | 253.0309 | 6.0 |
| Tolfenpyrad | C ₂₁ H ₂₂ ClN ₃ O ₂ | [M+H] ⁺ | 384.1474 | 10.5 |
| Triadimefon | C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃ O ₂ | [M+H] ⁺ | 294.1004 | 8.9 |
| Triadimenol | C ₁₄ H ₁₈ ClN ₃ O ₂ | [M+H] ⁺ | 296.1161 | 8.9 |
| Triazophos | C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ PS | [M+H] ⁺ | 314.0723 | 9.2 |
| Tricyclazole | C ₉ H ₇ N ₃ S | [M+H] ⁺ | 190.0434 | 6.4 |
| Tridemorph | C ₁₉ H ₃₉ NO | [M+H] ⁺ | 298.3105 | 11.9, 12.3 |
| Trifloxystrobin | C ₂₀ H ₁₉ F ₃ N ₂ O ₄ | [M+H] ⁺ | 409.1370 | 10.1 |
| Triflumizole | C ₁₅ H ₁₅ ClF ₃ N ₃ O | [M+H] ⁺ | 346.0929 | 10.1 |
| Triflumuron | C ₁₅ H ₁₀ ClF ₃ N ₂ O ₃ | [M+H] ⁺ | 359.0405 | 9.8 |
| Triticonazole | C ₁₇ H ₂₀ ClN ₃ O | [M+H] ⁺ | 318.1368 | 9.1 |

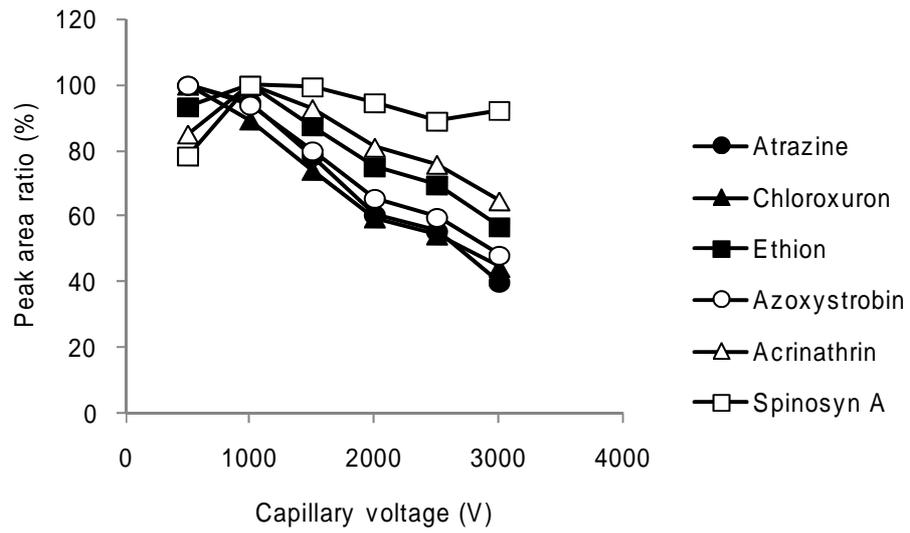


図1 各農薬のピーク面積に対するキャピラリー電圧の影響
(コーン電圧 20 V、コリジョンエネルギー4 eV)

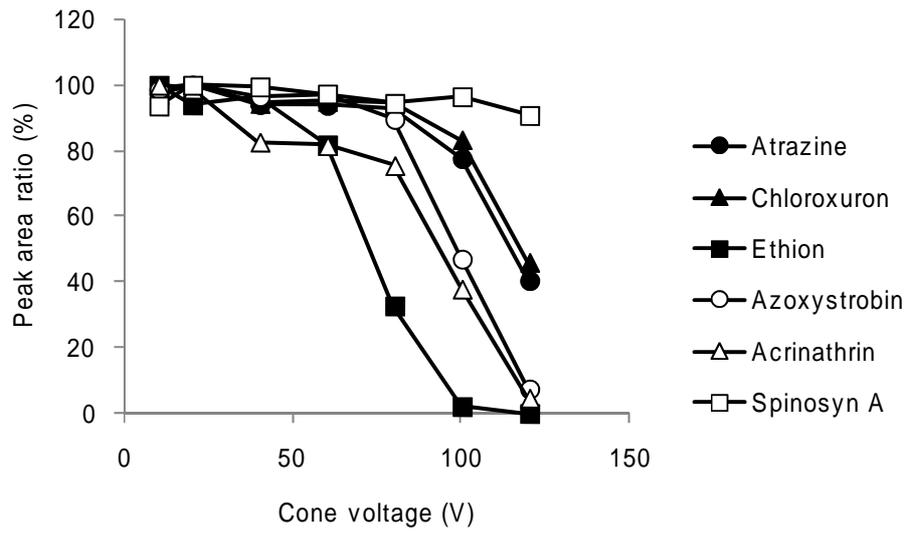


図2 各農薬のピーク面積に対するコーン電圧の影響
(キャピラリー電圧 1000 V、コリジョンエネルギー4 eV)

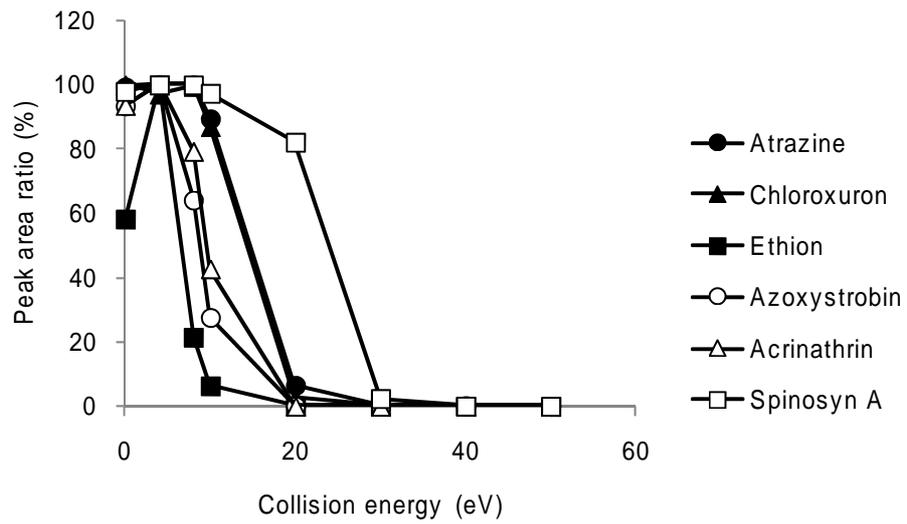


図3 各農薬のピーク面積に対するコリジョンエネルギーの影響
(キャピラリー電圧 1000 V、コーン電圧 20 V)

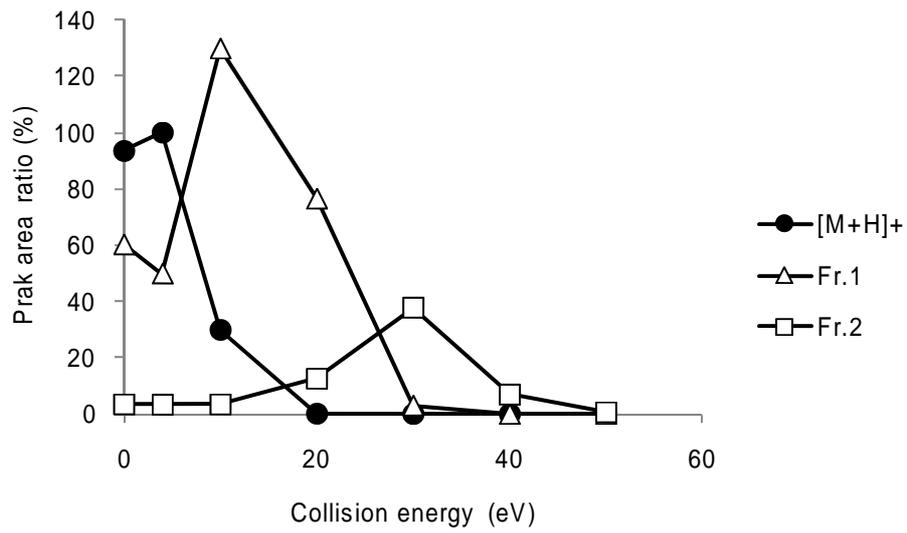


図 4 アゾキシストロピンとそのフラグメントイオン Fr.1 (m/z 372.0979) 及び Fr.2 (m/z 329.0795) のピーク面積に対するコリジョンエネルギーの影響
 アゾキシストロピンのピーク面積の最大値を 100% と示した。
 (キャピラリー電圧 1000 V、コーン電圧 20 V)

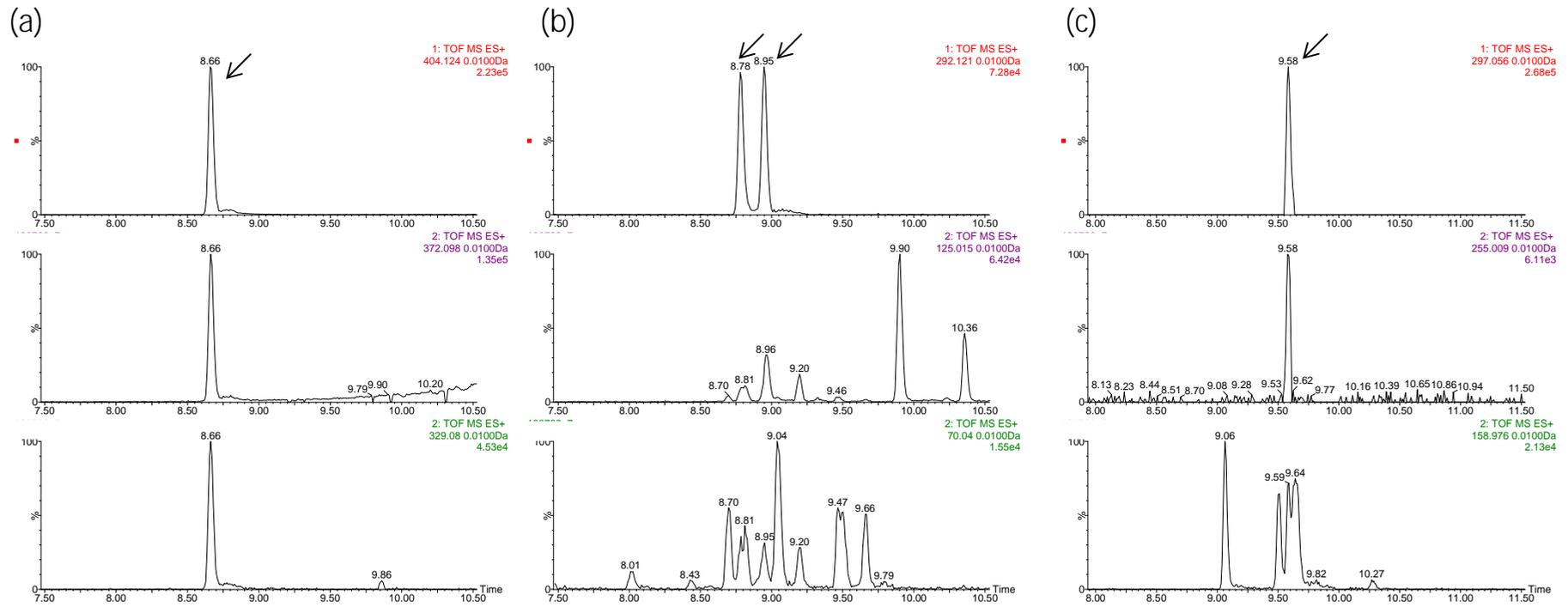


図5 標準溶液(0.01 µg/mL)における定量イオン及びそのフラグメントイオンの抽出イオンクロマトグラム(質量抽出幅 10 mDa)

- (a) azoxystrobin (上:[M+H]⁺、中:フラグメントイオン[C₂₁H₁₄N₃O₄]⁺、下:フラグメントイオン[C₁₉H₁₁N₃O₃]⁺)
- (b) cyproconazole (上:[M+H]⁺、中:フラグメントイオン[C₇H₆Cl]⁺、下:フラグメントイオン[C₂H₄N₃]⁺)
- (c) imazalil (上:[M+H]⁺、中:フラグメントイオン[C₁₁H₉N₂OCl₂]⁺、下:フラグメントイオン[C₇H₅Cl₂]⁺)



図 6 抽出質量幅による各農薬のピーク面積の再現性の影響

0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の溶媒標準溶液(151 農薬)を 5 回繰り返し測定し、各農薬のピーク面積を抽出質量幅 2、5、10、20 mDa に設定して定量し、再現性(RSD%)を求めた。図中の数字は農薬数を示した。

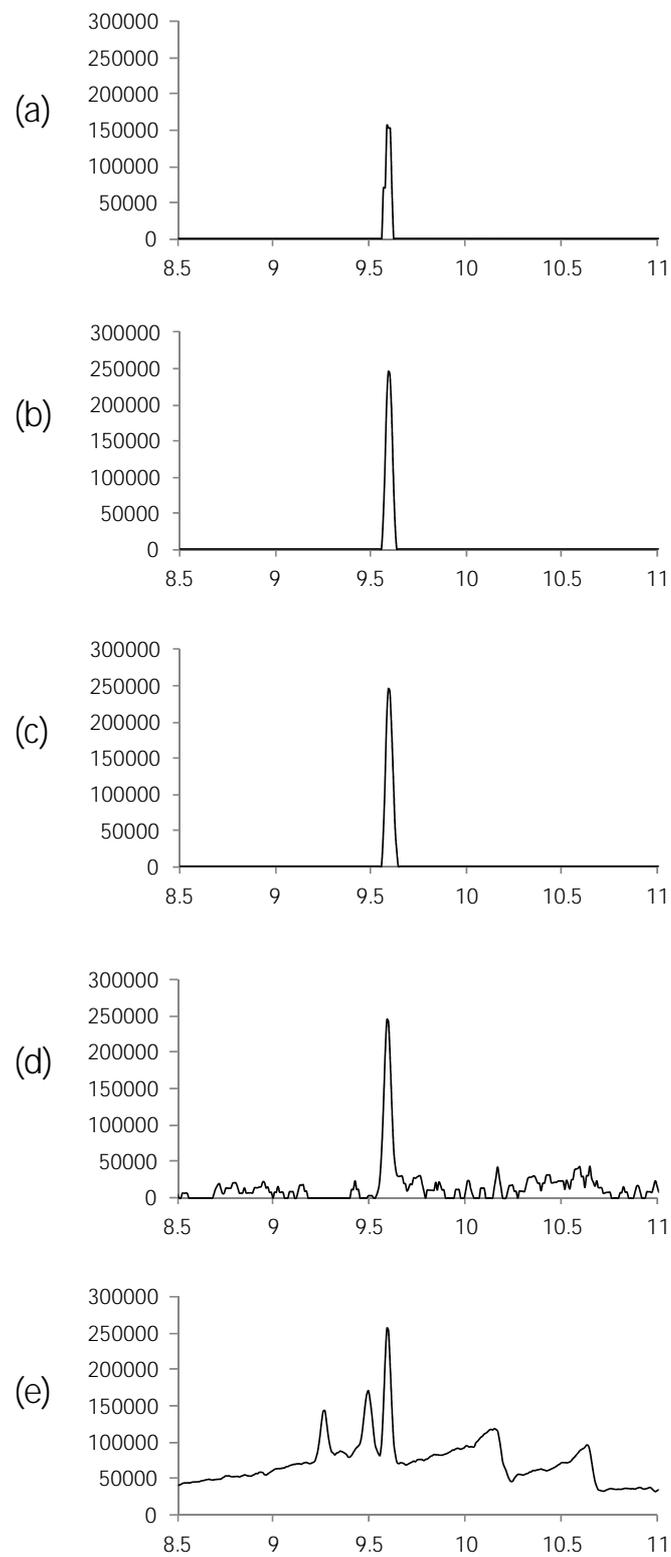


図 7 キャベツのマトリックス標準溶液におけるイマザリル ($[M+H]^+$, m/z 297.0556) の抽出イオンクロマトグラム

抽出質量幅 (a) 1 mDa, (b) 5 mDa, (c) 10 mDa, (d) 20 mDa, (e) 100 mDa

表2 GC-TOF-MS法の検討農薬の保持時間、定量イオン及び確認イオン

| | Compound | Retention time (min) | Quatitation (m/z) | Confirmation (m/z) |
|----|---------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------|
| 1 | ACETOCHLOR | 13.63 | 162.0919 | 223.0764 |
| 2 | ACRINATHRIN | 19.89 | 181.0653 | 208.0762 |
| 3 | ALACHLOR | 13.81 | 188.1075 | 160.1126 |
| 4 | ALDRIN | 14.74 | 262.8564 | 293.9346 |
| 5 | AMETRYN | 13.96 | 227.1205 | 212.0970 |
| 6 | ANILOFOS | 19.26 | 226.0457 | 124.9826 |
| 7 | ARAMITE | 16.74, 16.93 | 185.0039 | 334.1006 |
| 8 | ATRAZINE | 12.29 | 200.0703 | 215.0938 |
| 9 | AZACONAZOLE | 16.78 | 216.9823 | 172.9561 |
| 10 | AZINPHOS METHYL | 19.69 | 160.0511 | 132.0449 |
| 11 | AZOXYSTROBIN | 23.75 | 344.1035 | 388.0934 |
| 12 | BENFLURALIN | 11.38 | 292.0545 | 264.0232 |
| 13 | BENFURESATE | 13.52 | 163.0759 | 256.0769 |
| 14 | BENOXACOR | 13.33 | 120.0449 | 259.0167 |
| 15 | BHC () | 11.85 | 182.9349 | 218.9116 |
| 16 | BHC () | 12.34 | 182.9349 | 218.9116 |
| 17 | BHC () | 13.09 | 182.9349 | 218.9116 |
| 18 | BHC () | 12.53 | 182.9349 | 218.9116 |
| 19 | BIFENOX | 19.27 | 309.9674 | 340.9858 |
| 20 | BIFENTHRIN | 18.92 | 181.1017 | 166.0783 |
| 21 | BITERTANOL | 20.69 | 170.0732 | 171.0766 |
| 22 | BROMOBUTIDE | 13.68 | 232.1701 | 119.0861 |
| 23 | BROMOPHOS | 15.05 | 330.8781 | 328.8804 |
| 24 | BROMOPHOS ETHYL | 15.84 | 358.9094 | 302.8468 |
| 25 | BROMOPROPYLATE | 19.01 | 340.9000 | 182.9446 |
| 26 | BUPIRIMATE | 16.65 | 273.1021 | 208.1450 |
| 27 | BUPROFEZIN | 16.7 | 172.1034 | 105.0579 |
| 28 | BUTACHLOR | 16.01 | 176.1075 | 160.1126 |
| 29 | BUTAFENACIL | 20.98 | 331.0097 | 179.9852 |
| 30 | BUTAMIFOS | 16.17 | 286.1031 | 200.0113 |
| 31 | CADUSAFOS | 11.62 | 158.9703 | 157.9625 |
| 32 | CAFENSTROLE | 21.17 | 100.0762 | 188.1188 |
| 33 | CARFENTRAZONE ETHYL | 17.75 | 312.0596 | 340.0909 |
| 34 | CHLORBENSIDE | 15.92 | 125.0158 | 127.0129 |
| 35 | CHLORDANE () | 16.19 | 372.8254 | 374.8225 |
| 36 | CHLORDANE () | 15.94 | 372.8254 | 374.8225 |
| 37 | CHLORFENAPYR | 16.83 | 247.0483 | 59.0497 |
| 38 | CHLORFENSON | 16.37 | 301.9571 | 176.9777 |
| 39 | CHLORFENVINPHOS (E) | 15.23 | 266.9381 | 323.0007 |
| 40 | CHLORFENVINPHOS (Z) | 15.44 | 266.9381 | 323.0007 |
| 41 | CHLOROBENZILATE | 17.19 | 251.0031 | 138.9951 |
| 42 | CHLORPROPHAM | 11.29 | 127.0189 | 213.0557 |
| 43 | CHLORPYRIFOS | 14.6 | 313.9574 | 196.9202 |
| 44 | CHLORPYRIFOS METHYL | 13.67 | 285.9261 | 287.9232 |
| 45 | CHLORTHAL DIMETHYL | 14.7 | 300.8629 | 298.8836 |
| 46 | CHLOZOLINATE | 15.37 | 258.9803 | 331.0014 |
| 47 | CLOMAZONE | 12.39 | 204.1025 | 125.0158 |
| 48 | CLOMEPROP | 19.37 | 288.0791 | 120.0813 |
| 49 | COUMAPHOS | 20.85 | 362.0145 | 210.0084 |
| 50 | CYANAZINE | 14.65 | 212.0703 | 225.0656 |

表2 (つづき)

| | Compound | Retention time (min) | Quatitation (m/z) | Confirmation (m/z) |
|-----|---------------------|----------------------------|----------------------|-----------------------|
| 51 | CYANOPHOS | 12.59 | 243.0119 | 109.0081 |
| 52 | CYFLUFENAMID | 16.84 | 412.1210 | 294.0780 |
| 53 | CYFLUTHRIN | 21.23, 21.33, 21.42, 21.44 | 163.0081 | 206.0606 |
| 54 | CYHALOTHRIN | 19.71, 19.89 | 181.0653 | 197.0345 |
| 55 | CYPERMETHRIN | 21.57, 21.67, 21.74, 21.77 | 181.0653 | 163.0081 |
| 56 | CYPROCONAZOLE | 17 | 222.0434 | 138.9951 |
| 57 | CYPRODINIL | 15.27 | 224.1188 | 225.1266 |
| 58 | p,p'-DDD | 17.38 | 235.0081 | 237.0048 |
| 59 | p,p'-DDE | 16.57 | 246.0003 | 247.9970 |
| 60 | o,p'-DDT | 17.43 | 235.0081 | 237.0048 |
| 61 | p,p'-DDT | 18.09 | 235.0081 | 237.0048 |
| 62 | DELTAMETHRIN | 23.54 | 252.9051 | 250.9071 |
| 63 | DI-ALLATE | 11.7, 11.9 | 234.0719 | 86.0606 |
| 64 | DIAZINON | 12.69 | 304.1011 | 179.1184 |
| 65 | DICHLORAN | 12.09 | 205.9650 | 123.9954 |
| 66 | DIELDRIN | 16.73 | 262.8564 | 264.8535 |
| 67 | DIETHOFENCARB | 14.6 | 267.1471 | 225.1001 |
| 68 | DIFLUFENICAN | 18.32 | 266.0429 | 394.0741 |
| 69 | DIMETHAMETRYN | 15.35 | 212.0970 | 255.1518 |
| 70 | DIMETHENAMID | 13.57 | 230.0406 | 154.0690 |
| 71 | DIMETHOATE | 12.07 | 124.9826 | 87.0143 |
| 72 | DIMETHYLVINPHOS (E) | 14.36 | 294.9694 | 296.9666 |
| 73 | DIMETHYLVINPHOS (Z) | 14.64 | 294.9694 | 296.9666 |
| 74 | DISULFOTON | 12.94 | 88.0347 | 274.0285 |
| 75 | DITHIOPYR | 14.04 | 354.0587 | 286.0473 |
| 76 | EDIFENPHOS | 17.94 | 310.0251 | 172.9826 |
| 77 | Endosulfan sulfate | 16.21 | 240.9030 | 194.9480 |
| 78 | ENDOSULFAN () | 17.33 | 240.9070 | 194.9480 |
| 79 | ENDOSULFAN () | 18.04 | 271.8102 | 386.8400 |
| 80 | ENDRIN | 17.14 | 262.8564 | 264.8535 |
| 81 | EPN | 18.98 | 156.9877 | 185.0190 |
| 82 | EPOXICONAZOLE | 18.58 | 192.0329 | 165.0220 |
| 83 | ESPROCARB | 14.47 | 222.0953 | 162.1283 |
| 84 | ETHION | 17.35 | 230.9737 | 153.0139 |
| 85 | ETHOPROPHOS | 11.08 | 157.9625 | 200.0095 |
| 86 | ETOFENPROX | 21.92 | 163.1123 | 183.0810 |
| 87 | ETOXAZOLE | 19.08 | 141.0152 | 300.1200 |
| 88 | FENARIMOL | 20.16 | 138.9951 | 219.0325 |
| 89 | FENCHLORPHOS | 14.02 | 284.9309 | 286.9280 |
| 90 | FENITROTHION | 14.29 | 277.0174 | 260.0146 |
| 91 | FENOXANIL | 17 | 188.9874 | 293.1057 |
| 92 | FENPROPATHRIN | 19.11 | 265.0739 | 181.0653 |
| 93 | FENPROPIIMORPH | 14.74 | 128.1075 | 129.1107 |
| 94 | FENVALERATE | 22.57, 22.81 | 125.0158 | 167.0628 |
| 95 | FIPRONIL | 15.28 | 366.9435 | 368.9406 |
| 96 | FLAMPROP METHYL | 16.58 | 105.0340 | 77.0391 |
| 97 | FLUCYTHRINATE | 21.74, 21.94 | 199.0935 | 157.0465 |
| 98 | FLUDIOXONIL | 16.35 | 248.0397 | 154.0531 |
| 99 | FLUQUINCONAZOLE | 20.87 | 340.0401 | 342.0377 |
| 100 | FLUTOLANIL | 16.29 | 173.0214 | 145.0265 |

表2 (つづき)

| | Compound | Retention time (min) | Quatitation (m/z) | Confirmation (m/z) |
|-----|--------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|
| 101 | FLUVALINATE | 22.69 | 250.0610 | 209.0841 |
| 102 | FOSTHAZATE | 15.07 | 195.0119 | 283.0466 |
| 103 | FTHALIDE | 14.99 | 242.8752 | 240.8782 |
| 104 | INDOXACARB | 23.28 | 203.0219 | 150.0111 |
| 105 | IPROBENFOS | 13.25 | 204.0010 | 91.0548 |
| 106 | ISAZOPHOS | 12.94 | 161.0356 | 256.9791 |
| 107 | ISOFENPHOS | 15.41 | 213.0317 | 255.0786 |
| 108 | ISOFENPHOS OXON | 14.77 | 229.0266 | 200.9953 |
| 109 | ISOPROCARB | 9.96 | 121.0653 | 136.0888 |
| 110 | ISOPROTHIOLANE | 16.41 | 290.0647 | 117.9911 |
| 111 | ISOXADIFEN ETHYL | 17.76 | 294.1130 | 222.0919 |
| 112 | ISOXATHION | 16.91 | 105.0340 | 313.0538 |
| 113 | KRESOXIM METHYL | 16.67 | 116.0500 | 131.0735 |
| 114 | LENACIL | 17.99 | 153.0664 | 136.0399 |
| 115 | MALATHION | 14.44 | 173.0814 | 127.0395 |
| 116 | MECARBAM | 15.48 | 131.0041 | 159.0354 |
| 117 | MEFENACET | 19.85 | 192.0119 | 120.0813 |
| 118 | MEFENPYR DIETHYL | 18.58 | 252.9935 | 254.9907 |
| 119 | MEPRONIL | 17.59 | 119.0497 | 269.1416 |
| 120 | METALAXYL | 13.96 | 249.1365 | 206.1181 |
| 121 | METHIDATHION | 15.86 | 145.0072 | 85.0402 |
| 122 | METHOXYCHLOR | 19.08 | 227.1072 | 228.1106 |
| 123 | METOLACHLOR | 14.57 | 238.0999 | 162.1283 |
| 124 | MYCLOBUTANIL | 16.63 | 179.0310 | 150.0111 |
| 125 | OXADIAZON | 16.53 | 174.9592 | 258.0327 |
| 126 | OXADIXYL | 17.32 | 163.0997 | 233.0926 |
| 127 | PACLOBUTRAZOL | 16.02 | 236.0591 | 125.0158 |
| 128 | PARATHION | 14.75 | 291.0330 | 109.0055 |
| 129 | PARATHION METHYL | 13.63 | 263.0017 | 247.0068 |
| 130 | PENCONAZOLE | 19.89 | 248.0955 | 158.9768 |
| 131 | PENDIMETHALIN | 13.81 | 252.0984 | 281.1376 |
| 132 | PERMETHRIN | 13.96, 14.74 | 183.0810 | 163.0081 |
| 133 | PHENOTHRIN | 16.93, 19.26 | 183.0810 | 123.1174 |
| 134 | PHENTHOATE | 12.29 | 273.9887 | 245.9938 |
| 135 | PHOSALONE | 16.78 | 182.0009 | 366.9869 |
| 136 | PHOSMET | 19.69 | 160.0399 | 161.0477 |
| 137 | PHOSPHAMIDON | 12.71, 13.48 | 264.1001 | 127.0160 |
| 138 | PIPERONYL BUTOXIDE | 11.38 | 176.0837 | 177.0916 |
| 139 | PIRIMIPHOS METHYL | 13.52 | 290.0728 | 276.0572 |
| 140 | PRETILACHLOR | 13.33 | 238.0999 | 176.1075 |
| 141 | PROCYMIDONE | 11.85 | 283.0167 | 96.0575 |
| 142 | PROFENOFOS | 12.34 | 338.9643 | 336.9663 |
| 143 | PROMETRYN | 13.09 | 241.1361 | 184.0657 |
| 144 | PROPAPHOS | 12.53 | 219.9959 | 304.0898 |
| 145 | PROPICONAZOLE | 18.92, 19.27 | 259.0293 | 172.9561 |
| 146 | PROPOXUR | 20.69 | 110.0368 | 152.0837 |
| 147 | PROPYZAMIDE | 13.68 | 172.9561 | 174.9532 |
| 148 | PROTHIOFOS | 15.05 | 308.9940 | 266.9470 |
| 149 | PYRAFLUFEN ETHYL | 15.84 | 412.0205 | 414.0178 |
| 150 | PYRAZOPHOS | 19.01 | 221.0800 | 232.1086 |

表2 (つづき)

| | Compound | Retention time (min) | Quatitation (m/z) | Confirmation (m/z) |
|-----|------------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------|
| 151 | PYRIBUTICARB | 16.65 | 108.0449 | 165.0664 |
| 152 | PYRIDABEN | 16.7 | 147.1174 | 309.0828 |
| 153 | PYRIDAFENTHION | 16.01 | 340.0647 | 199.0871 |
| 154 | PYRIFENOX (E) | 20.98 | 262.0065 | 264.0037 |
| 155 | PYRIFENOX (Z) | 16.17 | 262.0065 | 264.0037 |
| 156 | PYRIMETHANIL | 11.62 | 198.1031 | 199.1110 |
| 157 | PYRIMINOBAC METHYL (E) | 21.17 | 302.1141 | 256.0722 |
| 158 | PYRIMINOBAC METHYL (Z) | 17.75 | 302.1141 | 256.0722 |
| 159 | PYRIPROXYFEN | 15.92 | 136.0762 | 226.0994 |
| 160 | QUINALPHOS | 16.19 | 146.0480 | 157.0766 |
| 161 | QUINOXYFEN | 15.94 | 237.0590 | 272.0278 |
| 162 | QUINTOZENE | 16.83 | 236.8413 | 248.8413 |
| 163 | SILAFLUOFEN | 16.37 | 179.0892 | 286.1189 |
| 164 | SIMECONAZOLE | 15.23 | 121.0454 | 195.0641 |
| 165 | TEBUCONAZOLE | 15.44 | 250.0747 | 125.0158 |
| 166 | TEBUFENPYRAD | 17.19 | 318.1373 | 333.1608 |
| 167 | TECNAZENE | 11.29 | 202.8803 | 214.8803 |
| 168 | TEFLUTHRIN | 14.6 | 177.0327 | 197.0345 |
| 169 | TERBUFOS | 13.67 | 230.9737 | 153.0139 |
| 170 | TETRACHLORVINPHOS | 14.7 | 328.9304 | 330.9276 |
| 171 | TETRACONAZOLE | 15.37 | 336.0527 | 338.0501 |
| 172 | TETRADIFON | 12.39 | 355.8814 | 158.9671 |
| 173 | THENYLCHLOR | 19.37 | 288.1058 | 127.0218 |
| 174 | THIOBENCARB | 20.85 | 100.0762 | 125.0158 |
| 175 | TOLCLOFOS METHYL | 14.65 | 264.9855 | 266.9827 |
| 176 | TOLFENPYRAD | 12.59 | 383.1401 | 171.0325 |
| 177 | TRIADIMEFON | 16.84 | 208.0278 | 57.0704 |
| 178 | TRI-ALLATE | 21.23 | 268.0330 | 270.0300 |
| 179 | TRIAZOPHOS | 21.33 | 257.0024 | 161.0589 |
| 180 | TRIBUPHOS | 21.44 | 258.0336 | 314.0962 |
| 181 | TRIFLOXYSTROBIN | 19.71 | 116.0500 | 145.0265 |
| 182 | TRIFLURALIN | 19.89 | 306.0702 | 264.0232 |
| 183 | UNICONAZOLE | 21.57 | 234.0434 | 236.0407 |
| 184 | VINCLOZOLIN | 21.67 | 284.9960 | 212.0034 |

表3 マトリックス標準溶液のピーク面積の再現性(試料中濃度 0.005 ppm 相当、n=5)及び検出限界
(下線(赤字): 試料中濃度 0.05 ppm 相当)

| | Compound | Spinach | | | | | Brown rice | | | | |
|----|---------------------|----------------|----------------|----------|----------------|------------------------|----------------|----------------|----------|----------------|------------------------|
| | | RSD% | | | | LOD ^e (ppb) | RSD% | | | | LOD ^e (ppb) |
| | | 10mDa | 20mDa | 50mDa | 100mDa | | 10mDa | 20mDa | 50mDa | 100mDa | |
| 1 | ACETOCHLOR | 7 | 6 | 3 | 4 | <1 | 5 | 5 | 5 | — ^b | 1 |
| 2 | ACRINATHRIN | 6 | 6 | 6 | 12 | 1 | <u>8</u> | <u>8</u> | <u>8</u> | <u>6</u> | 25 |
| 3 | ALACHLOR | 4 | 5 | 5 | 5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 6 | <1 |
| 4 | ALDRIN | 1 | 1 | 1 | 1 | <1 | 3 | 3 | 3 | 3 | 1 |
| 5 | AMETRYN | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 6 | ANILOFOS | 6 | 7 | 7 | 7 | 1 | 9 | 9 | 9 | 8 | 1 |
| 7 | ARAMITE | 6 | 6 | 6 | 5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 5 | 1 |
| 8 | ATRAZINE | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 3 | 3 | 4 | 3 | 1 |
| 9 | AZACONAZOLE | 5 | 5 | 5 | 7 | 1 | 6 | 6 | 6 | 8 | 1 |
| 10 | AZINPHOS METHYL | 11 | 11 | 11 | 9 | 2 | 9 | 9 | 9 | 9 | 1 |
| 11 | AZOXYSTROBIN | 91 | 11 | 11 | 11 | 2 | 13 | 10 | 10 | 10 | 1 |
| 12 | BENFLURALIN | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 13 | BENFURESATE | 2 | 2 | 2 | 1 | <1 | 4 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 14 | BENOXACOR | 9 | 8 | 8 | 5 | 1 | 2 | 2 | 2 | — ^b | <1 |
| 15 | BHC () | 2 | 2 | 2 | 2 | <1 | 2 | 2 | 2 | 2 | <1 |
| 16 | BHC () | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 17 | BHC () | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 18 | BHC () | 3 | 3 | 3 | 3 | 1 | 3 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 19 | BIFENOX | <u>20</u> | <u>4</u> | <u>8</u> | <u>3</u> | 13 | 14 | 14 | 14 | 14 | 2 |
| 20 | BIFENTHRIN | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 | 6 | 6 | 5 | 5 | 1 |
| 21 | BITERTANOL | 11 | 11 | 11 | 15 | 2 | 11 | 11 | 11 | 26 | 2 |
| 22 | BROMOBUTIDE | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 66 | 66 | 66 | — ^b | 10 |
| 23 | BROMOPHOS | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 24 | BROMOPHOS ETHYL | 4 | 5 | 5 | 5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 25 | BROMOPROPYLATE | 7 | 6 | 6 | 6 | 1 | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 |
| 26 | BUPIRIMATE | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 27 | BUPROFEZIN | 4 | 5 | 5 | 5 | 1 | <u>9</u> | <u>3</u> | <u>3</u> | <u>3</u> | 16 |
| 28 | BUTACHLOR | 6 | 6 | 6 | 8 | 1 | 3 | 3 | 3 | 16 | 1 |
| 29 | BUTAFENACIL | 6 | 9 | 9 | 9 | 1 | 8 | 8 | 8 | 8 | 1 |
| 30 | BUTAMIFOS | 11 | 11 | 11 | 11 | 2 | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 |
| 31 | CADUSAFOS | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 32 | CAFENSTROLE | 8 | 8 | 8 | — ^a | 1 | 6 | 6 | 8 | 7 | 1 |
| 33 | CARFENTRAZONE ETHYL | 7 | 8 | 8 | 8 | 1 | 6 | 7 | 5 | 5 | 1 |
| 34 | CHLORBENSIDE | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 | 4 | 4 | 4 | 10 | 1 |
| 35 | CHLORDANE () | 4 | 3 | 3 | 3 | <1 | 9 | 2 | 2 | 2 | <1 |
| 36 | CHLORDANE () | 2 | 3 | 3 | 3 | <1 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 37 | CHLORFENAPYR | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 7 | 6 | 5 | 8 | 1 |
| 38 | CHLORFENSON | — ^c | — ^c | 6 | 6 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 39 | CHLORFENVINPHOS (E) | 8 | 7 | 7 | 7 | 1 | 9 | 9 | 9 | 9 | 1 |
| 40 | CHLORFENVINPHOS (Z) | 8 | 8 | 8 | 8 | 1 | 8 | 8 | 8 | 8 | 1 |
| 41 | CHLOROBENZILATE | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 | 4 | 4 | 4 | 3 | 1 |
| 42 | CHLORPROPHAM | 3 | 3 | 3 | 2 | <1 | 3 | 3 | 3 | 7 | <1 |
| 43 | CHLORPYRIFOS | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 44 | CHLORPYRIFOS METHYL | 5 | 4 | 4 | 4 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 45 | CHLORTHAL DIMETHYL | — ^c | — ^c | 3 | 3 | <1 | — ^c | — ^c | 3 | 3 | 1 |
| 46 | CHLOZOLINATE | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | <1 |
| 47 | CLOMAZONE | 2 | 2 | 2 | 2 | <1 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 48 | CLOMEPROP | 7 | 8 | 8 | 8 | 1 | 7 | 7 | 7 | 7 | 1 |
| 49 | COUMAPHOS | 18 | 10 | 10 | 10 | 2 | 9 | 9 | 9 | 9 | 1 |
| 50 | CYANAZINE | 7 | 6 | 6 | 6 | 1 | 6 | 5 | 4 | 4 | 1 |

表3 (つづき)

| | Compound | Spinach | | | | | Brown rice | | | | |
|-----|---------------------|----------|----------|----------|----------|------------------------|------------|----------|----------|----------|------------------------|
| | | RSD% | | | | LOD ^o (ppb) | RSD% | | | | LOD ^o (ppb) |
| | | 10mDa | 20mDa | 50mDa | 100mDa | | 10mDa | 20mDa | 50mDa | 100mDa | |
| 51 | CYANOPHOS | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 52 | CYFLUFENAMID | 64 | 8 | 8 | 8 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 53 | CYFLUTHRIN | <u>7</u> | <u>7</u> | <u>7</u> | <u>8</u> | 11* | <u>7</u> | <u>7</u> | <u>7</u> | <u>8</u> | 12* |
| 54 | CYHALOTHRIN | 6 | 6 | 6 | 8 | 1* | <u>6</u> | <u>6</u> | <u>6</u> | <u>6</u> | 13* |
| 55 | CYPERMETHRIN | 8 | 8 | 7 | 4 | 2* | <u>7</u> | <u>7</u> | <u>7</u> | <u>8</u> | 11* |
| 56 | CYPROCONAZOLE | 5 | 5 | 5 | 7 | 1 | 5 | 5 | 5 | 13 | 1 |
| 57 | CYPRODINIL | 5 | 6 | 4 | 4 | 1 | 3 | 3 | 3 | 6 | <1 |
| 58 | p,p'-DDD | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 59 | p,p'-DDE | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 60 | o,p'-DDT | 9 | 9 | 9 | 9 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 61 | p,p'-DDT | 8 | 8 | 8 | 8 | 1 | 7 | 7 | 7 | 7 | 1 |
| 62 | DELTAMETHRIN | 10 | 10 | 10 | 10 | 2 | 10 | 10 | 10 | 10 | 1 |
| 63 | DI-ALLATE | 4 | 4 | 4 | 4 | 1* | 3 | 3 | 3 | 3 | 1* |
| 64 | DIAZINON | 3 | 3 | 3 | 4 | <1 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 65 | DICHLORAN | 12 | 12 | 12 | 12 | 2 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 66 | DIELDRIN | 1 | 1 | 1 | 1 | <1 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 67 | DIETHOFENCARB | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 68 | DIFLUFENICAN | 6 | 6 | 5 | 5 | 1 | 6 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 69 | DIMETHAMETRYN | 3 | 3 | 3 | 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 4 | <1 |
| 70 | DIMETHENAMID | 3 | 2 | 3 | 3 | <1 | 3 | 2 | 3 | 3 | <1 |
| 71 | DIMETHOATE | 7 | 6 | 5 | 8 | 1 | 3 | 5 | 4 | 4 | 1 |
| 72 | DIMETHYLVINPHOS (E) | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 73 | DIMETHYLVINPHOS (Z) | 8 | 8 | 8 | 7 | 1 | 5 | 5 | 5 | 4 | 1 |
| 74 | DISULFOTON | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 5 | 6 | 4 | 4 | 1 |
| 75 | DITHIOPYR | 2 | 2 | 2 | 2 | <1 | 3 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 76 | EDIFENPHOS | 6 | 7 | 6 | 6 | 1 | 9 | 7 | 8 | 6 | 1 |
| 77 | ENDOSULFAN SULFATE | 5 | 6 | 6 | 6 | 1 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 78 | ENDOSULFAN () | 8 | 4 | 4 | 4 | 1 | 6 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 79 | ENDOSULFAN () | 6 | 4 | 4 | 4 | 1 | 7 | 6 | 6 | 6 | 1 |
| 80 | ENDRIN | 9 | 9 | 9 | 9 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 81 | EPN | 8 | 8 | 8 | 6 | 1 | 7 | 7 | 7 | 7 | 1 |
| 82 | EPOXICONAZOLE | 4 | 4 | 6 | 11 | 1 | 5 | 5 | 5 | 4 | 1 |
| 83 | ESPROCARB | 2 | 6 | 2 | 2 | <1 | 3 | 7 | 9 | 10 | 1 |
| 84 | ETHION | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 85 | ETHOPROPHOS | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 86 | ETOFENPROX | 8 | 8 | 8 | 8 | 1 | 15 | 15 | 15 | 7 | 2 |
| 87 | ETOXAZOLE | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 88 | FENARIMOL | 7 | 7 | 7 | 7 | 1 | 9 | 9 | 9 | 9 | 1 |
| 89 | FENCHLORPHOS | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 90 | FENITROTHION | 15 | 15 | 15 | 15 | 2 | 4 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 91 | FENOXANIL | 4 | 4 | 4 | 9 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | 1 |
| 92 | FENPROPATHRIN | 7 | 7 | 7 | 9 | 1 | 6 | 6 | 6 | 4 | 1 |
| 93 | FENPROPIMORPH | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 3 | 3 | 3 | 3 | 1 |
| 94 | FENVALERATE | 18 | 10 | 10 | 8 | 2* | 8 | 12 | 11 | 10 | 2* |
| 95 | FIPRONIL | 6 | 7 | 7 | 7 | 1 | 7 | 7 | 7 | 7 | 1 |
| 96 | FLAMPROP METHYL | 2 | 2 | 2 | 4 | <1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 97 | FLUCYTHRINATE | 6 | 7 | 8 | 8 | 2* | 17 | 17 | 17 | 17 | 3* |
| 98 | FLUDIOXONIL | 6 | 5 | 6 | 8 | 1 | 7 | 6 | 7 | 7 | 1 |
| 99 | FLUQUINCONAZOLE | 25 | 8 | 8 | 8 | 1 | 9 | 8 | 8 | 8 | 1 |
| 100 | FLUTOLANIL | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |

表3 (つづき)

| | Compound | Spinach | | | | | Brown rice | | | | |
|-----|--------------------|---------|-------|----------------|----------------|------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------------|
| | | RSD% | | | | LOD ^e (ppb) | RSD% | | | | LOD ^e (ppb) |
| | | 10mDa | 20mDa | 50mDa | 100mDa | | 10mDa | 20mDa | 50mDa | 100mDa | |
| 101 | FLUVALINATE | 9 | 9 | 9 | 9 | 2* | 8 | 8 | 9 | 9 | 1* |
| 102 | FOSTHAZATE | 13 | 9 | 9 | 10 | 1 | 14 | 14 | 14 | 16 | 2 |
| 103 | FTHALIDE | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 | — ^d | — ^d | — ^d | — ^d | — |
| 104 | INDOXACARB | 33 | 10 | 13 | 11 | 2 | 25 | 13 | 8 | 10 | 1 |
| 105 | IPOBENFOS | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 106 | ISAZOPHOS | 8 | 8 | 5 | 4 | 1 | 7 | 5 | 6 | 6 | 1 |
| 107 | ISOFENPHOS | 4 | 3 | 5 | 3 | 1 | 5 | 5 | 5 | 7 | 1 |
| 108 | ISOFENPHOS OXON | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 109 | ISOPROCARB | 3 | 3 | 4 | 4 | 1 | 8 | 6 | 6 | 6 | 1 |
| 110 | ISOPROTHIOLANE | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 111 | ISOXADIFEN ETHYL | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 | 6 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 112 | ISOXATHION | 10 | 10 | 10 | 16 | 2 | 8 | 8 | 8 | — ^b | 1 |
| 113 | KRESOXIM METHYL | 7 | 4 | 5 | 5 | 1 | 224 | 7 | 7 | 7 | 1 |
| 114 | LENACIL | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 | 27 | 12 | 12 | 13 | 9* |
| 115 | MALATHION | 5 | 3 | 3 | 3 | <1 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 116 | MECARBAM | 4 | 4 | 4 | — ^a | 1 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 117 | MEFENACET | 8 | 7 | 7 | 7 | 1 | 9 | 10 | 7 | 7 | 1 |
| 118 | MEFENPYR DIETHYL | 5 | 6 | 5 | 4 | 1 | 4 | 6 | 5 | 5 | 1 |
| 119 | MEPRONIL | 7 | 7 | 7 ^a | — ^a | 1 | 8 | 8 | 8 | — ^b | 1 |
| 120 | METALAXYL | 2 | 2 | 5 | — ^a | 1 | 8 | 7 | 6 | 7 | 1 |
| 121 | METHIDATHION | 7 | 7 | 7 | 7 | 1 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 122 | METHOXYCHLOR | 8 | 8 | 8 | 8 | 1 | 12 | 6 | 9 | 10 | 1 |
| 123 | METOLACHLOR | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 124 | MYCLOBUTANIL | 224 | 4 | 9 | 8 | 1 | 69 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 125 | OXADIAZON | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 126 | OXADIXYL | 11 | 11 | 11 | 12 | 2 | <u>6</u> | <u>6</u> | <u>6</u> | <u>7</u> | 9 |
| 127 | PACLOBUTRAZOL | 12 | 12 | 12 | 12 | 2 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 128 | PARATHION | 13 | 15 | 15 | 15 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | <1 |
| 129 | PARATHION METHYL | 16 | 12 | 12 | 12 | 2 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 130 | PENCONAZOLE | 4 | 5 | 5 | 5 | 1 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 131 | PENDIMETHALIN | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 132 | PERMETHRIN | 7 | 7 | 7 | 8 | 1* | <u>6</u> | <u>6</u> | <u>6</u> | <u>7</u> | 11* |
| 133 | PHENOTHRIN | 6 | 6 | 6 | 6 | 1* | <u>6</u> | <u>6</u> | <u>6</u> | <u>5</u> | 10* |
| 134 | PHENTHOATE | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 135 | PHOSALONE | 7 | 7 | 7 | 7 | 1 | 7 | 7 | 7 | 7 | 1 |
| 136 | PHOSMET | 6 | 7 | 7 | 7 | 1 | 8 | 8 | 8 | 8 | 1 |
| 137 | PHOSPHAMIDON | 15 | 17 | 17 | 17 | 3 | 9 | 9 | 9 | 9 | 1 |
| 138 | PIPERONYL BUTOXIDE | 6 | 6 | 6 | 5 | 1 | 3 | 5 | 4 | 4 | 1 |
| 139 | PIRIMIPHOS METHYL | 3 | 3 | 3 | 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 140 | PRETILACHLOR | 8 | 8 | 8 | 8 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | 1 |
| 141 | PROCYMIDONE | 4 | 5 | 5 | 3 | 1 | 9 | 3 | 3 | 5 | <1 |
| 142 | PROFENOFOS | 18 | 6 | 7 | 7 | 1 | 7 | 7 | 7 | 7 | 1 |
| 143 | PROMETRYN | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 144 | PROPAPHOS | 8 | 8 | 8 | 8 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 145 | PROPICONAZOLE | 6 | 5 | 5 | 5 | 1* | 6 | 6 | 6 | 5 | 2 |
| 146 | PROPOXUR | 2 | 2 | 2 | 2 | <1 | 3 | 3 | 3 | 5 | <1 |
| 147 | PROPYZAMIDE | 2 | 2 | 2 | 2 | <1 | 4 | 4 | 2 | 2 | <1 |
| 148 | PROTHIOFOS | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 5 | 6 | 5 | 4 | 1 |
| 149 | PYRAFLUFEN ETHYL | 55 | 5 | 5 | 5 | 1 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 150 | PYRAZOPHOS | 6 | 8 | 8 | 8 | 1 | 9 | 9 | 9 | 8 | 1 |

表3 (つづき)

| | Compound | Spinach | | | | | Brown rice | | | | |
|-----|------------------------|---------|-------|-------|--------|------------------------|----------------|-------|-------|----------------|------------------------|
| | | RSD% | | | | LOD ^e (ppb) | RSD% | | | | LOD ^e (ppb) |
| | | 10mDa | 20mDa | 50mDa | 100mDa | | 10mDa | 20mDa | 50mDa | 100mDa | |
| 151 | PYRIBUTICARB | 6 | 6 | 5 | 7 | 1 | 5 | 10 | 6 | — ^b | 1 |
| 152 | PYRIDABEN | 14 | 12 | 13 | 11 | 2 | 8 | 7 | 8 | 7 | 1 |
| 153 | PYRIDAFENTHION | 11 | 5 | 6 | 6 | 1 | 8 | 8 | 6 | 5 | 1 |
| 154 | PYRIFENOX (E) | 8 | 8 | 8 | 9 | 1 | 5 | 5 | 6 | 5 | 1 |
| 155 | PYRIFENOX (Z) | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 | 5 | 5 | 6 | 5 | 1 |
| 156 | PYRIMETHANIL | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 4 | 4 | 4 | 3 | 1 |
| 157 | PYRIMINOBAC METHYL (E) | 8 | 8 | 8 | 8 | 1 | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 |
| 158 | PYRIMINOBAC METHYL (Z) | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 159 | PYRIPROXYFEN | 5 | 5 | 5 | 4 | 1 | 6 | 6 | 6 | 5 | 1 |
| 160 | QUINALPHOS | 5 | 5 | 7 | 7 | 1 | 14 | 14 | 14 | 14 | 2 |
| 161 | QUINOXYFEN | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 162 | QUINTOZENE | 10 | 10 | 10 | 10 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 163 | SILAFLUOFEN | 8 | 9 | 9 | 10 | 1 | 7 | 7 | 8 | 8 | 1 |
| 164 | SIMECONAZOLE | 5 | 6 | 10 | 3 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 165 | TEBUCONAZOLE | 5 | 6 | 6 | 6 | 1 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 166 | TEBUFENPYRAD | 6 | 6 | 6 | 6 | 1 | 6 | 5 | 5 | 5 | 1 |
| 167 | TECNAZENE | 5 | 6 | 6 | 6 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 168 | TEFLUTHRIN | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 4 | 4 | 4 | 3 | 1 |
| 169 | TERBUFOS | 2 | 2 | 2 | 2 | <1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 170 | TETRACHLORVINPHOS | 9 | 9 | 9 | 11 | 1 | 7 | 6 | 6 | 8 | 1 |
| 171 | TETRACONAZOLE | 5 | 5 | 5 | 5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 172 | TETRADIFON | 32 | 6 | 6 | 6 | 1 | 7 | 7 | 7 | 7 | 1 |
| 173 | THENYLCHLOR | 10 | 10 | 10 | 10 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 |
| 174 | THIOBENCARB | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 2 | 2 | 2 | 6 | <1 |
| 175 | TOLCLOFOS METHYL | 2 | 2 | 3 | 2 | <1 | 3 | 3 | 4 | 4 | 1 |
| 176 | TOLFENPYRAD | 50 | 13 | 13 | 13 | 2 | 15 | 11 | 11 | 11 | 2 |
| 177 | TRIADIMEFON | 16 | 9 | 8 | 8 | 1 | 15 | 3 | 3 | 9 | <1 |
| 178 | TRI-ALLATE | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 3 | 3 | 3 | 4 | <1 |
| 179 | TRIAZOPHOS | 6 | 5 | 5 | 5 | 1 | 11 | 11 | 11 | 11 | 2 |
| 180 | TRIBUPHOS | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 181 | TRIFLOXYSTROBIN | 10 | 7 | 5 | 5 | 1 | — ^c | 12 | 5 | 5 | 1 |
| 182 | TRIFLURALIN | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 |
| 183 | UNICONAZOLE P | 10 | 10 | 10 | 10 | 1 | 6 | 6 | 5 | 5 | 1 |
| 184 | VINCLOZOLIN | 3 | 3 | 3 | 3 | <1 | 4 | 4 | 3 | 3 | <1 |

a: 妨害

b: 感度不足

c: 測定精密質量のずれにより、設定した質量幅では検出されなかった

d: 試料中に残留

e: 抽出質量幅 50 mDa で定量した結果を用いて算出

* 全ての異性体が検出可能な濃度

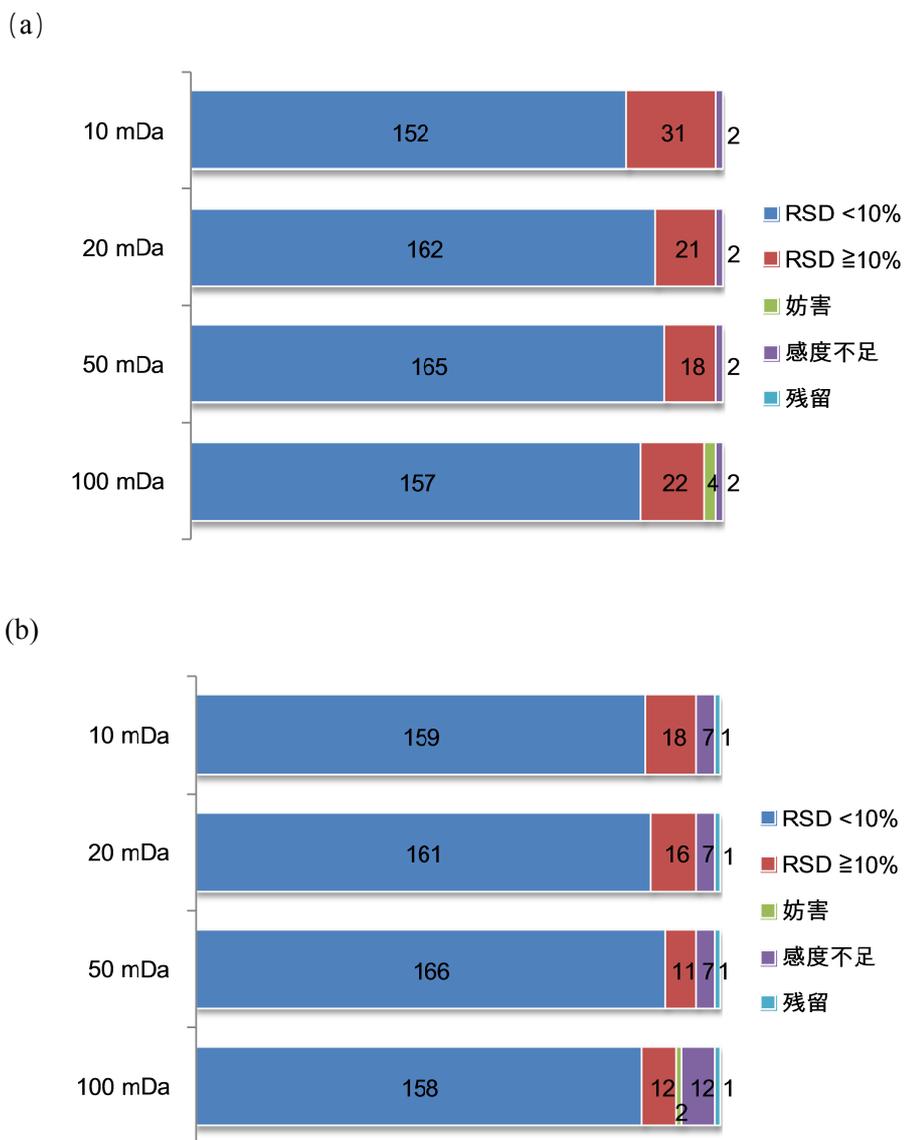


図 8 (a) ほうれんそう及び(b) 玄米のマトリックス標準溶液(試料中濃度 0.005 ppm 相当, n=5)のピーク面積の変動(RSD%)
図内の数字は農薬数を示した。

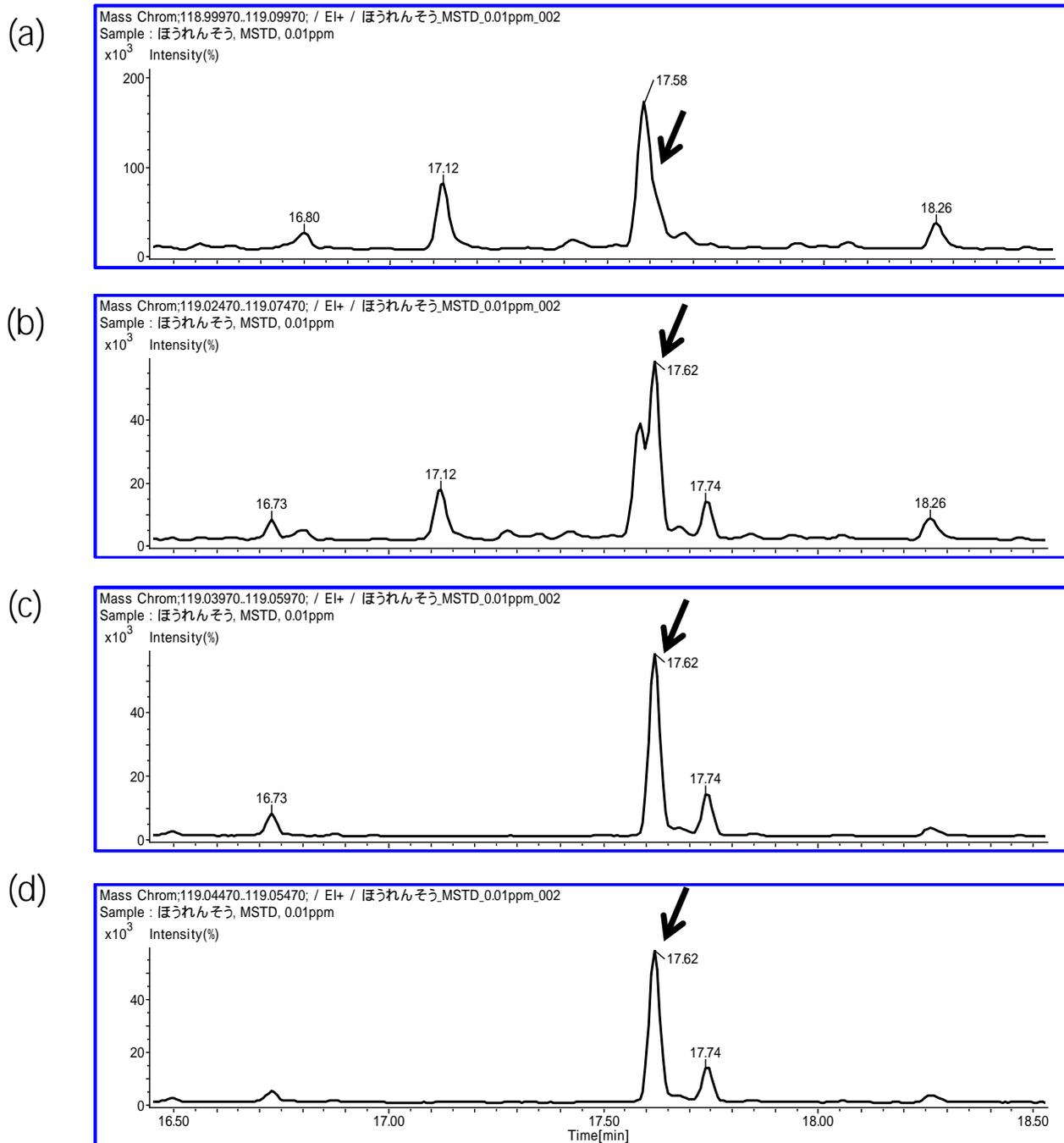


図9 ほうれんそうのマトリックス標準溶液の mepronil (m/z 249.1365) の抽出イオンクロマトグラム
 (a) 100 mDa, (b) 50 mDa, (c) 20 mDa, (d) 10 mDa

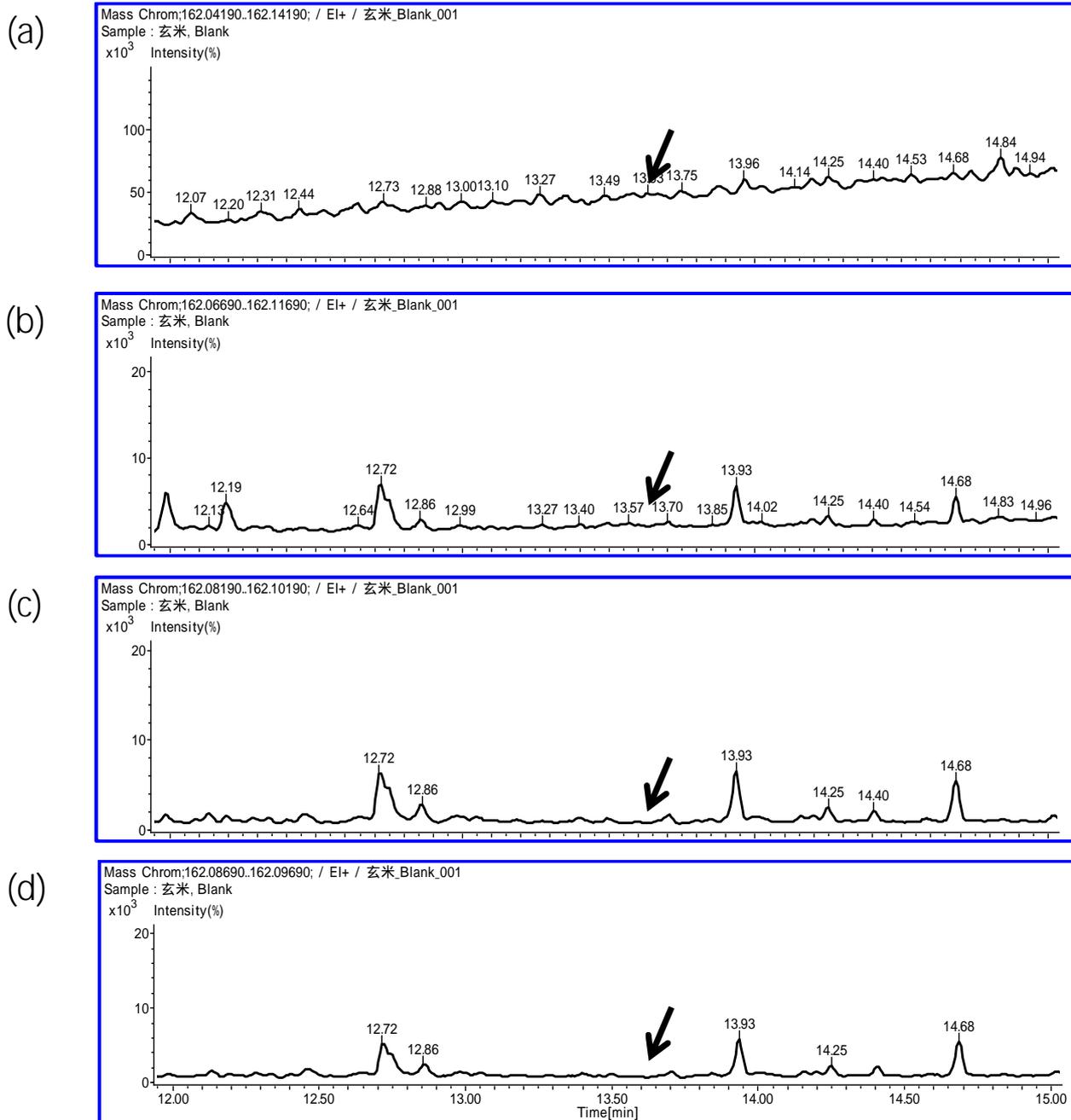


図 10-1 玄米のblank試験溶液の acetochlor (m/z 162.0919) の抽出イオンクロマトグラム
 (a) 100 mDa, (b) 50 mDa, (c) 20 mDa, (d) 10 mDa

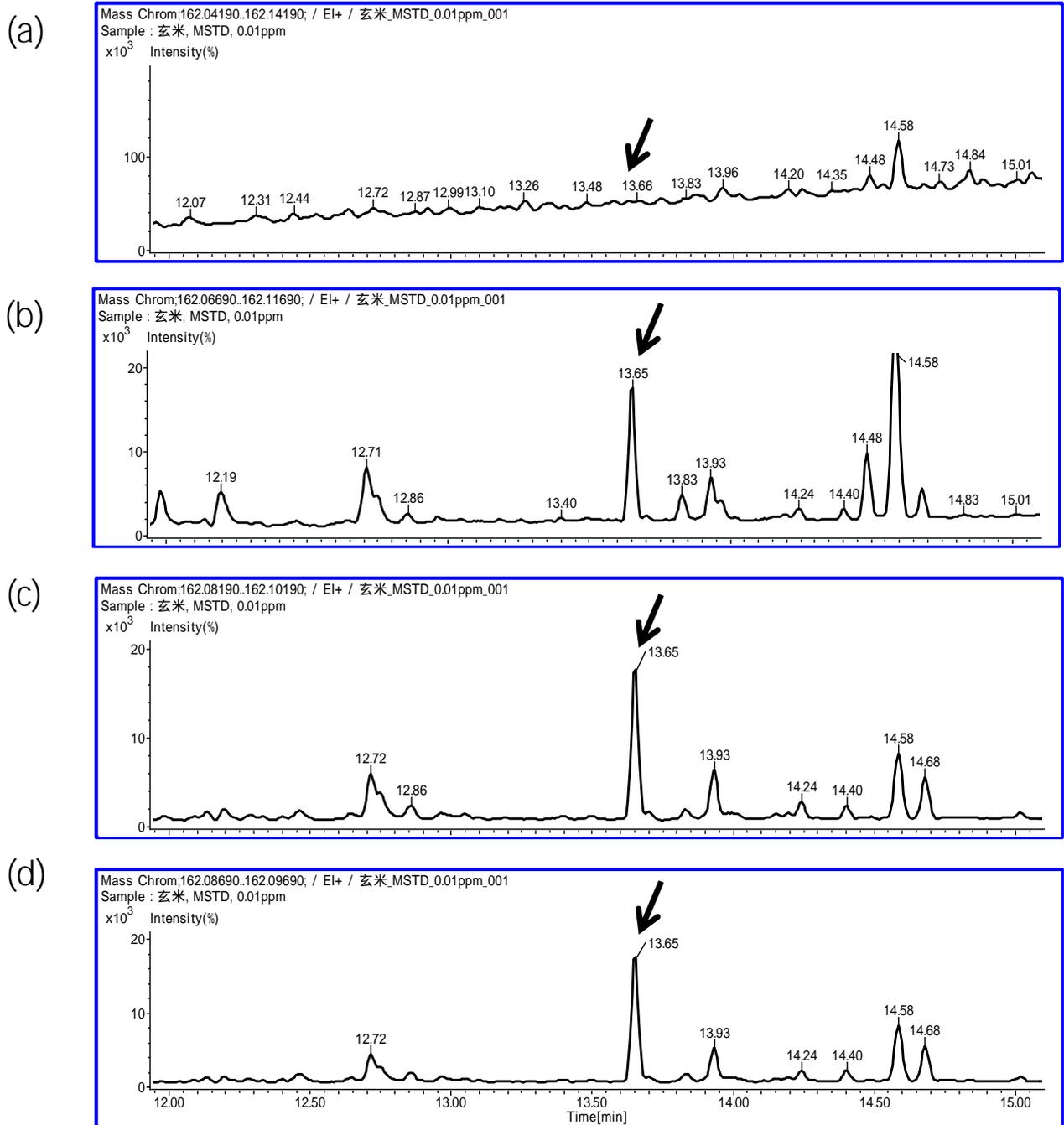


図 10-2 玄米のマトリックス標準溶液 (0.01 ppm) の acetochlor (m/z 162.0919) の抽出イオンクロマトグラム
(a) 100 mDa, (b) 50 mDa, (c) 20 mDa, (d) 10 mDa

. 研究成果の刊行に関する一覧表

. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|----------------|--------------------------------|-----------|-------|---------|------|
| 齊藤静夏、根本了、松田りえ子 | LC-MS/MS を用いた茶熱湯浸出液中の残留農薬一斉分析法 | 日本食品化学学会誌 | 20(3) | 221-225 | 2013 |