

GC-MS/MS による牛肉中の残留農薬一斉分析法の検討

内山賢二・中村正規

福岡市保健環境研究所保健科学課

Simultaneous Determination Method for Pesticide Residues in Beef by Gas Chromatography with Tandem Mass Spectrometry

Kenji UCHIYAMA and Masanori NAKAMURA

Health Science Division, Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

要約

GC-MS/MS による牛肉中の残留農薬一斉分析法を検討し、117 化合物について一律基準濃度 (0.01ppm) での妥当性評価試験を実施した。試験溶液は、試料をアセトンおよび n-ヘキサン (1:2) 混液で抽出し、アセトニトリル/n-ヘキサン分配を行い、エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製し調製した。添加回収試験を実施者 2 名で 2 併行 3 日間行い、厚生労働省より示された「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」の各性能パラメーター (選択性・真度・精度・定量限界) を評価した結果、117 化合物のうち 4 化合物で真度が目標値に適合しなかったが、113 化合物においてすべての目標値に適合した。従って本分析法は牛肉中の残留農薬分析法として有用であると考えられる。

Key Words: ガスクロマトグラフ・タンデム型質量分析計 GC-MS/MS, 一斉分析 simultaneous determination, 残留農薬 pesticide residue

1 はじめに

平成 18 年 5 月 29 日に食品中に残留する農薬等のポジティブリスト制度が導入され、畜水産物においても新たに多くの農薬等について暫定基準が設定された。これに伴い、厚生労働省は分析法を通知¹⁾し、「GC/MS による農薬等の一斉試験法 (畜水産物)」(以下、通知法) が示された。通知法では、抽出液をゲル浸透クロマトグラフィー (以下、GPC) で食品中の脂肪分を除去 (以下、脱脂) することとなっている。しかし GPC による精製は多検体を同時並行で処理することができないため、処理に長時間を要する等の問題がある。

今回、脱脂方法として、GPC の代わりに多検体同時処理が可能なアセトニトリル/n-ヘキサン分配を用い、測定に GC-MS/MS を用いた牛肉中の残留農薬一斉分析法を

検討した。

平成 22 年 12 月に「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」が改正され²⁾ (以下、ガイドライン)、食品規格への適合判定のために使用される試験法は、このガイドラインの基準に適合していることが求められる。

そこで、検討した試験法について、ガイドラインに従って 117 化合物を対象に一律基準濃度での妥当性評価も行ったので報告する。

2 実験方法

2.1 試料

福岡市内で市販されていた牛肉 (牛の筋肉) を用いた。

2.2 試薬等

標準品：和光純薬工業（株），林純薬工業（株），Dr.Ehrenstorfer GmbH 社，Riedel de Haën 社製残留農薬分析用を用いた。

標準原液：各標準品を 1000mg/L となるようにアセトンに溶解し調製した。

標準溶液：標準原液を混合し，1mg/L となるようにアセトンで調製後，さらにアセトンおよび n-ヘキサン(1:1) 混液で適宜希釈して使用した。

エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル (PSA)ミニカラム:VARIAN社製BOND ELUT LRC-PSA (500mg/3mL) をアセトンおよび n-ヘキサン (1:1) 混液 10mL でコンディショニングし使用した。

ろ紙：アドバンテック東洋(株)製ろ紙 5A を使用した。

その他の試薬：残留農薬試験用を使用した。

2.3 装置

ガスクロマトグラフ：Varian 社製 CP-3800

質量分析計 (MS/MS)：Varian 社製 1200

ホモジナイザー：Kinematica 社製 PT-MR 3100

2.4 測定条件

2.4.1 ガスクロマトグラフ

既報^{3),4)}に基づき次のとおりとした。

カラム：J&W Scientific 社製 DB-5MS (0.25mm i.d. × 30m, 0.25μm)

カラム温度：50 (1min) - 25 /min - 125 (0min) - 10 /min - 300 (10min)

キャリアーガス流量：1mL/min (ヘリウム)

注入口温度：250 ，注入量：2μL (スプリットレス)

2.4.2 質量分析計

イオン化モード：EI (70 eV)，イオン化電流：50μA

イオン源温度：225 ，インターフェース温度：250

その他の条件：表 1 のとおり

2.5 試験溶液の調製

試料 20g に水 20mL，アセトンおよび n-ヘキサン (1:2) 混液 100mL を加えホモジナイズし，遠心分離 (2500rpm, 5min) した後，有機層をろ過した。残留物に n-ヘキサン 50mL を加え，再度ホモジナイズし遠心分離を行い，有機層をろ過し，ろ液を合わせ無水硫酸ナトリウムで脱水後，n-ヘキサンで 200mL に定容した。そのうち 50mL を減圧濃縮し，窒素パージで乾固させ，残渣を秤量し粗脂肪量とした。これを n-ヘキサン 20mL に溶解，n-ヘキサン飽和アセトニトリル 30mL を加え振とうし，静置した。アセトニトリル層を分取し，残った n-ヘキサン層に再度 n-ヘキサン飽和アセトニトリル 30mL を

加え振とうし，静置した後，アセトニトリル層を合わせた。これを減圧下で濃縮し乾固させ，アセトンおよび n-ヘキサン (1:1) 混液 2mL に溶解した後，全量を PSA ミニカラムに負荷し，同じ溶液 20mL で溶出した。溶出液を減圧下で濃縮し乾固させ，アセトンおよび n-ヘキサン (1:1) 混液 2mL に溶解し試験溶液とした。

2.6 添加回収試験 (妥当性評価)

117 化合物について，一律基準濃度 (0.01ppm) での添加回収試験を実施者 2 名で 2 併行 3 日間行い，ガイドラインに従い選択性・真度・精度 (併行精度・室内精度)・定量限界を評価した。

3 結果

3.1 GC MS/MS 条件の検討

各化合物の 10mg/L 標準溶液を電子イオン化 (EI) により SCAN モードで測定し，強度が高いイオンをプリカーサーイオン (Q1) とした。PRODUCT SCAN モードでコリジョンエネルギーを変化させ，1mg/L とした各化合物の標準溶液を測定し，相対的に最も感度が高かったプロダクトイオン (Q3) をモニターイオンとした。測定条件を表 1 に示した。各化合物の検量線は 0.01 ~ 0.1μg/mL の濃度で相関係数は 0.986 以上と良好な直線性を示した。

3.2 アセトニトリル/n-ヘキサン分配の検討

試料の抽出液をアセトニトリル/n-ヘキサン分配し，アセトニトリル層を減圧濃縮し，窒素パージで乾固させ，残渣を目視で確認したところ，脂肪分は確認されなかった。また，添加回収試験において，ほとんどの化合物で良好な結果が得られたことから，アセトニトリル/n-ヘキサン分配による脱脂は GPC の代替法として適用可能であった。

3.3 添加回収試験 (妥当性評価)

3.3.1 選択性および定量限界

ブランク試料を測定したところ，すべての化合物において定量を妨害するようなピークはみられず，選択性の条件を満足するものであった。添加回収試料 (0.01ppm) のクロマトグラムから S/N を求めたところ，すべての化合物において S/N 10 であったため，定量限界を 0.01ppm と設定した。

3.3.2 真度および精度

結果を表 2 に示した。117 化合物のうち 4 化合物 (アルドリン，フェンスルホチオン，ピラクロホス，シフルトリン) が真度において目標値である 70 ~ 120% に適合

しなかったが、その他 113 化合物についてはすべての目標値（真度：70～120%，併行精度：RSD% < 25，室内精度：RSD% < 30）に適合した。真度が適合しなかった主な理由として、アルドリンは脂溶性が高くアセトニトリル/n-ヘキサン分配においてアセトニトリル層に十分に移行しなかったため、またフェンスルホチオンは容易に

スルホン体に酸化されるため⁵⁾真度が低下したと考えられた。120%を超過したピラクロホスおよびシフルトリンは、試料成分のマトリックス効果（試料成分が対象化合物の測定値に影響を与える現象）により GC-MS/MS での測定値が増強されたためと考えられた。

表 1 各化合物の測定条件

No.	化合物名	測定条件			No.	化合物名	測定条件		
		Q1(m/z)	Q3(m/z)	CE(eV) ¹			Q1(m/z)	Q3(m/z)	CE(eV) ¹
1	イソプロカルブ	121	77	-20	60	フルトラニル	173	145	-11
2	フェノプロカルブ	150	121	-15	61	フルジオキソニル	248	154	-20
3	エトプロホス	158	114	-10	62	ヘキサコナゾール	175	111	-20
4	クロルプロファミ	213	171	-10	63	プロチオホス	309	239	-15
5	トリフルラリン	306	264	-15	64	プレチラクロール	162	132	-15
6	ペンダイオカルブ	166	151	-10	65	チフルザミド	194	166	-10
7	ベンシクロン	180	125	-25	66	pp'-DDE	246	176	-25
8	- BHC	219	145	-20	67	ウニコナゾールP	234	137	-20
9	チオメトン	246	88	-10	68	マイクロプタニル	179	152	-10
10	デスメディファミ	181	122	-15	69	クレソキシムメチル	206	116	-7
11	トリフルミゾール代謝物	201	136	-25	70	フルシラゾール	233	165	-20
12	- BHC	219	145	-20	71	op'-DDD	235	165	-25
13	- BHC	219	145	-20	72	ディルドリン	263	193	-30
14	テルブホス	231	175	-15	73	シプロコナゾール	222	82	-15
15	ダイアジノン	179	121	-30	74	フェノキサニル	189	125	-15
16	ピリメタニル	198	118	-40	75	エンドリン	281	209	-20
17	ターバジル	161	88	-25	76	ピリミノバックメチル(Z)	302	256	-15
18	テフルトリン	177	127	-15	77	クロルベンジレート	251	139	-20
19	- BHC	219	145	-20	78	フェンスルホチオン	293	125	-12
20	ピリミカルブ	166	71	-25	79	pp'-DDD	235	165	-25
21	ジメテナミド	230	154	-20	80	op'-DDT	235	165	-25
22	クロルピリホスメチル	286	241	-30	81	メプロニル	269	119	-10
23	パラチオンメチル	263	109	-10	82	トリアゾホス	161	106	-15
24	アラクロール	160	132	-11	83	エディフェンホス	173	108	-15
25	トルクロホスメチル	265	250	-25	84	ピリミノバックメチル(E)	302	256	-15
26	シメトリン	213	170	-15	85	ピラフルフェンエチル	412	349	-12
27	ヘプタクロール	237	143	-35	86	レナシル	153	136	-11
28	ピリミホスメチル	290	125	-20	87	プロピコナゾール	259	191	-10
29	フェントロチオン	277	109	-15	88	pp'-DDT	235	165	-25
30	マラチオン	173	99	-15	89	ジフルフェニカン	266	218	-30
31	エスプロカルブ	222	91	-10	90	テブコナゾール	250	125	-15
32	メトラクロール	162	133	-11	91	ピリプチカルブ	165	108	-10
33	クロルピリホス	314	258	-15	92	ピフェントリン	181	166	-10
34	ジエトフェンカルブ	225	168	-15	93	エトキサゾール	300	270	-20
35	チオベンカルブ	257	100	-10	94	フェンプロバトリン	181	152	-11
36	ジメチルピンホス	295	109	-20	95	ピフェノックス	341	310	-11
37	シアナジン	225	189	-20	96	ホサロン	182	111	-11
38	フェンチオン	278	109	-25	97	シハロホップブチル	256	91	-15
39	アルドリン	263	193	-30	98	メフェナセット	192	136	-10
40	パラチオン	291	109	-10	99	シハロトリン	197	141	-5
41	テトラコナゾール	336	128	-25	100	アクリナトリン	289	93	-10
42	ホスチアゼート	195	103	-10	101	フェナリモル	139	111	-25
43	ペンディメタリン	252	162	-10	102	ピラクロホス	360	194	-10
44	シプロジニル	224	118	-40	103	cis-ベルメトリン	163	127	-25
45	フィプロニル	367	213	-25	104	trans-ベルメトリン	163	127	-25
46	ベンコナゾール	248	192	-20	105	ピリダベン	309	147	-15
47	イソフェンホス	213	185	-10	106	カフェンストロール	100	72	-10
48	ピリフェノックス(Z)	262	200	-20	107	シフルトリン	163	91	-15
49	ヘプタクロールエポキシド	353	263	-15	108	ハルフェンプロックス	263	129	-25
50	フェントエート	274	246	-10	109	ボスカリド	342	140	-15
51	ジクロシメット	277	221	-15	110	フルシトリネート	199	157	-10
52	キナルホス	157	102	-10	111	シベルメトリン	163	127	-10
53	プロシミドン	283	96	-15	112	ピリミジフェン	184	169	-30
54	トリフルミゾール	206	179	-15	113	フルミオキサジン	354	326	-15
55	ピリフェノックス(E)	262	200	-20	114	フェンバレレート	167	125	-15
56	op'-DDE	246	176	-25	115	フルバリネート	250	200	-25
57	ブタクロール	176	147	-11	116	ジフェノコナゾール	323	265	-20
58	バクロプロトラゾール	236	125	-10	117	デルタメトリン	253	172	-10
59	ブタミホス	286	202	-10					

1 CE : Collision energy

表2 添加回収試験結果

No	化合物名 ¹	真度 ²	併行精度 ³	室内精度 ⁴	評価 結果	No	化合物名 ¹	真度 ²	併行精度 ³	室内精度 ⁴	評価 結果
		(%)	(RSD%)	(RSD%)				(%)	(RSD%)	(RSD%)	
1	イソプロカルブ	90	6.9	9.7		60	フルトラニル	108	6.2	10.8	
2	フェノブカルブ	87	6.6	9.0		61	* フルジオキソニル	95	7.4	10.0	
3	* エトプロホス	92	7.0	9.5		62	* ヘキサコナゾール	106	8.8	13.9	
4	* クロルプロファム	97	5.9	9.4		63	* プロチオホス	85	4.2	6.9	
5	トリフルラリン	89	10.1	13.2		64	* プレチラクロール	93	4.8	6.8	
6	ペンダイオカルブ	71	7.8	13.5		65	* チフルザミド	99	5.0	9.4	
7	* ペンシクロン	106	9.4	11.4		66	pp'-DDE	73	3.3	5.2	
8	* -BHC	85	6.0	11.1		67	* ウニコナゾールP	117	4.7	10.1	
9	チオメトン	93	8.5	15.6		68	* ミクロブタニル	101	8.6	9.8	
10	* デスメディファム	103	17.6	28.0		69	クレソキシムメチル	96	5.4	10.0	
11	トリフルミゾール代謝物	100	6.7	9.0		70	フルシラゾール	92	9.9	23.1	
12	* -BHC	90	7.9	9.6		71	* op'-DDD	81	6.3	7.4	
13	-BHC	86	8.4	9.0		72	ディルドリン	86	13.9	17.2	
14	テルブホス	91	6.8	11.8		73	シプロコナゾール	100	9.7	14.2	
15	ダイアジノン	91	7.4	11.3		74	* フェノキサニル	99	6.3	9.4	
16	ピリメタニル	97	6.4	9.4		75	エンドリン	86	23.5	22.0	
17	* ターバジル	78	10.7	22.4		76	* ピリミバックメチル(Z)	93	7.8	10.8	
18	テフルトリン	90	3.7	7.2		77	クロルベンジレート	97	5.9	9.1	
19	* -BHC	88	4.1	12.3		78	* フェンスルホチオン	68	10.3	15.2	x
20	ピリミカルブ	82	7.8	11.6		79	pp'-DDD	86	6.8	9.4	
21	* ジメテナミド	95	4.6	7.3		80	op'-DDT	85	6.1	8.1	
22	クロルピリホスメチル	100	8.8	9.3		81	* メプロニル	106	4.3	8.9	
23	バラチオンメチル	98	6.1	9.2		82	* トリアゾホス	109	11.0	12.1	
24	* アラクロール	98	6.9	9.1		83	* エディフェンホス	106	8.6	13.1	
25	* トルクロホスメチル	94	5.7	9.9		84	* ピリミバックメチル(E)	101	6.8	10.7	
26	* シメトリン	88	6.7	12.3		85	* ピラフルフェンエチル	100	7.3	13.6	
27	ヘブタクロル	78	13.7	19.6		86	* レナシル	78	5.9	11.9	
28	* ビリミホスメチル	94	3.4	9.5		87	プロピコナゾール	108	5.3	13.6	
29	フェントロチオン	99	8.8	11.2		88	pp'-DDT	109	4.3	15.6	
30	マラチオン	95	3.3	8.7		89	* ジフルフェニカン	103	6.8	9.2	
31	* エスプロカルブ	85	5.3	6.5		90	テブコナゾール	110	7.4	12.3	
32	* メトラクロール	94	3.2	8.0		91	* ビリブチカルブ	102	5.4	11.7	
33	クロルピリホス	89	6.3	6.4		92	ビフェントリン	94	5.5	8.3	
34	* ジエトフェンカルブ	91	5.5	10.9		93	エトキサゾール	103	4.9	9.5	
35	* チオベンカルブ	90	5.1	8.4		94	フェンプロバトリン	120	6.0	9.2	
36	* ジメチルピホス	90	3.2	9.3		95	* ビフェノックス	116	9.0	11.0	
37	* シアナジン	70	12.5	13.4		96	* ホサロン	115	5.7	9.9	
38	フェンチオン	94	5.6	8.4		97	* シハロホップブチル	114	5.6	10.4	
39	アルドリン	53	5.3	12.3	x	98	* メフェナセット	114	4.9	10.8	
40	バラチオン	105	8.4	11.3		99	シハロトリン	112	7.1	12.0	
41	テトラコナゾール	103	8.8	12.8		100	* アクリナトリン	110	6.3	11.7	
42	* ホスチアゼート	76	4.4	12.4		101	フェナリモル	109	8.6	12.9	
43	* ペンディメタリン	85	5.7	8.7		102	* ビラクロホス	124	12.3	15.8	x
44	* シプロジニル	94	3.9	10.3		103	cis-ベルメトリン	115	5.5	11.8	
45	フィプロニル	96	9.6	12.9		104	trans-ベルメトリン	111	6.8	10.4	
46	ベンコナゾール	101	4.0	15.7		105	ピリダベン	99	5.3	13.4	
47	* イソフェンホス	97	5.9	7.8		106	* カフェンストロール	113	5.6	11.6	
48	* ビリフェノックス(Z)	102	6.6	13.4		107	シフルトリン	124	3.9	10.8	x
49	ヘブタクロルエポキシド	89	4.4	8.0		108	* ハルフェンプロックス	98	7.1	11.2	
50	* フェントエート	100	6.5	10.8		109	ボスカリド	104	4.8	9.7	
51	* ジクロシメット	95	6.3	11.5		110	フルシトリネート	115	4.4	9.9	
52	* キナルホス	98	5.3	7.4		111	シベルメトリン	111	6.9	12.9	
53	プロシミドン	99	3.7	8.3		112	* ビリミジフェン	112	6.7	12.2	
54	トリフルミゾール	117	14.5	17.9		113	フルミオキサジン	86	3.7	9.4	
55	* ビリフェノックス(E)	107	13.8	19.7		114	フェンバレレート	113	6.2	9.1	
56	* op'-DDE	79	4.6	7.4		115	* フルバリネート	117	7.0	11.0	
57	* ブタクロール	91	9.8	10.0		116	ジフェノコナゾール	105	4.7	9.8	
58	* バクロブトラゾール	108	4.8	11.0		117	デルタメトリン	108	6.1	13.3	
59	* ブタミホス	97	3.9	10.1							

1 *のついた化合物は牛の筋肉の基準値が0.01ppm(一律基準含む)のもの。

2 添加濃度0.01ppmにおける真度の目標値70~120%

3 添加濃度0.01ppmにおける併行精度の目標値RSD% < 25

4 添加濃度0.01ppmにおける室内精度の目標値RSD% < 30

4 まとめ

GC-MS/MS による牛肉中の残留農薬一斉分析法を検討した。脱脂にアセトニトリル/n-ヘキサン分配を行い、精製にエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムを用いることで短時間に多くの検体を処理することができ、全ての化合物で妨害ピークは見られなかった。

117 化合物で一律基準濃度での妥当性評価を行った結果、113 化合物について評価基準を満足したため、本分析法は牛肉中の残留農薬分析法として有用であると考えられた。

ガイドラインでは、添加回収試験を「基準値濃度」で行うこととなっている。また、一斉試験法の場合、基準値濃度の添加が困難であるため、「各農薬等の基準値に近い一定の濃度」および「一律基準濃度」の2濃度による評価でも良いとされている。従って、基準値が0.01ppm(一律基準を含む)以外の項目については、今後「各農薬等の基準値に近い一定の濃度」での添加回収試験を実施し、食品規格

の適合判定の試験法として確立したい。

文献

- 1) 厚生労働省通知食安発第0124001号：食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法，平成17年1月24日
- 2) 厚生労働省通知食安発第1224第1号：食品中に残留する農薬等に関する妥当性評価ガイドラインの一部改正について，平成22年12月24日
- 3) 久保記久子，畑野和広：GC/MS/MSによる農産物中の残留農薬の一斉分析，福岡市保健環境研究所報，31，88-94，2006
- 4) 畑野和広，久保記久子：GC/MS/MSによる農産物中の残留農薬の一斉分析()，福岡市保健環境研究所報，32，89-94，2007
- 5) 農薬残留分析法研究班編：最新農薬の残留分析法【改訂版】，423～425，中央法規，2006