

# 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価

保健科学課 微量分析担当

## 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、新たに多くの農薬について暫定基準が設定された。これに対応するため、当所では高感度で選択性が高いガスクロマトグラフ・タンデム型質量分析計 (GC-MS/MS) および高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) を用いて農産物中の一斉試験法を実施している。

一方、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<sup>1) 2)</sup> (以下、ガイドライン)、食品衛生法に定められた規格基準への適合性について判断を行う試験に適用されることとなった。そこで、当所で使用している試験法について、ガイドラインに従って妥当性評価を実施したので報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 試料

対象農薬が検出されていないえだまめ、ほうれんそう、大豆および玄米を用いた。

### 2.2 試薬等

農薬混合標準原液：林純薬工業 (株) 製 PL2005 農薬 GC/MS Mix I ~ VI および 7, LC/MS Mix 4 ~ 10

標準品：上記の農薬混合標準原液に含まれていない標準品は和光純薬工業 (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。

0.5mol/L リン酸緩衝液 (pH7.0)：リン酸水素二カリウム 52.7g およびリン酸二水素カリウム 30.2g を量り採り、水約 500mL に溶解し、1mol/L 塩酸を用いて pH を 7.0 に調整した後、水を加えて 1L とした。

オクタデシルシリル化シリカゲル/無水硫酸ナトリウム積層 (C18/DRY) ミニカラム：ジーエルサイエンス (株) 製 InertSep DRY/C18 (1g/3g) をあらかじめアセトニトリル 10mL でコンディショニングして使用した。

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積層 (GC/NH<sub>2</sub>) ミニカラム：ジーエルサイエンス (株) 製 InertSep GC/NH<sub>2</sub> (1g/1g) をあらかじめアセトニ

トリルおよびトルエン(3:1)混液 10mL でコンディショニングして使用した。

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

#### 2.3.1 GC-MS/MS

ガスクロマトグラフ質量分析計：Bruker Daltonics 社製 SCION TQ

#### 2.3.2 LC-MS/MS

液体クロマトグラフ：Agilent社製 1260シリーズ  
質量分析装置 (MS/MS)：AB SCIEX社製 TQ5500

### 2.4 測定条件

#### 2.4.1 GC-MS/MS

表 1 に示した。

#### 2.4.2 LC-MS/MS

表 2 に示した。

表1 GC-MS/MS条件

|            |   |
|------------|---|
| ・ガスクロマトグラフ |   |
| 注入口温度      | 250°C<br>J&W Scientific社製                                   |
| カラム        | DB-5MS+DG<br>(0.25mmi.d×30m,0.25µm)<br>50°C (1min)-25°C/min |
| カラム温度      | -125°C-10°C/min-300°C(10min)                                |
| キャリアーガス流量  | 1mL/min(ヘリウム)   |
| 注入量        | 2µL(スプリットレス)  |
| ・質量分析計     |   |
| イオン化電流     | 70µA  |
| イオン化モード    | EI  |
| イオン源温度     | 225°C   |
| インターフェース温度 | 250°C   |

表 2 LC-MS/MS 条件

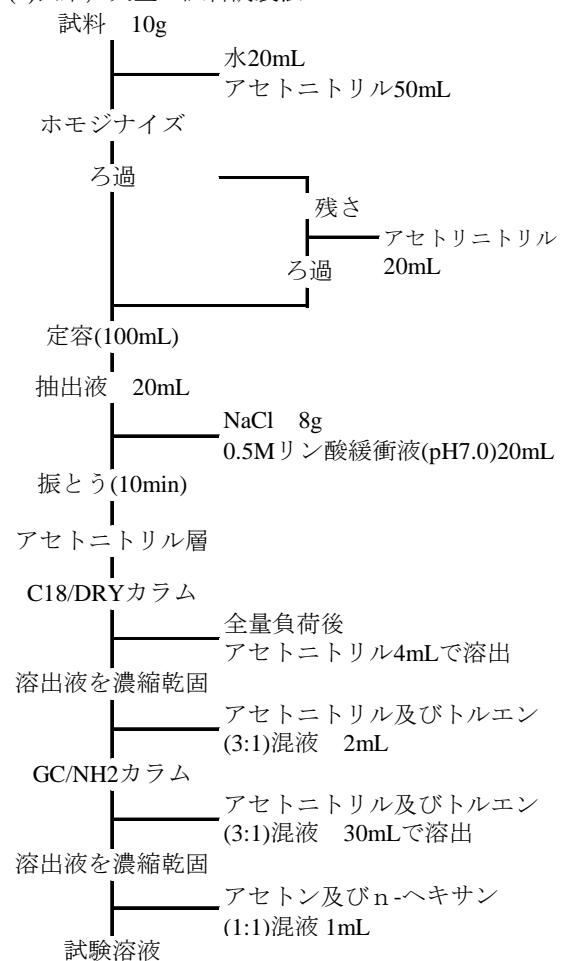
|           |  |           |
|-----------|--|-----------|
| 分析カラム     | Atrantis T3 C18 (Waters 社製)<br>(50 mm×2.1 mm i.d., 3.0 μm) |           |
| カラム温度     | 40℃  |           |
| 移動相       | A 液: 5 mmol/L 酢酸アンモニウム<br>B 液: アセトリトリル                     |           |
| 移動相流量     | 0.2 mL/min   |           |
| グラジエント条件  | TIME(min)  | A(%) B(%) |
|           | 0.0  | 100 0     |
|           | 1.0  | 100 0     |
|           | 20.0   | 10 90     |
|           | 33.0   | 10 90     |
|           | 33.1   | 100 0     |
|           | 45.0   | 100 0     |
| 注入量       | 5μL  |           |
| イオン化      | ESI  |           |
| イオン化      | (ポジティブ測定)  | (ネガティブ測定) |
| イオンスプレー電圧 | 5,500 V  | -4,500 V  |
| イオンソース温度  | 650℃   | 450℃      |

## 2.5 試験溶液の調製

### 2.5.1 GC-MS/MS 用試験溶液の調製

GC-MS/MS 用試験溶液の調製法を図 1 に示した。

#### (1) 玄米, 大豆の試料調製法



#### (2) えだまめ, ほうれんそうの試料調製法

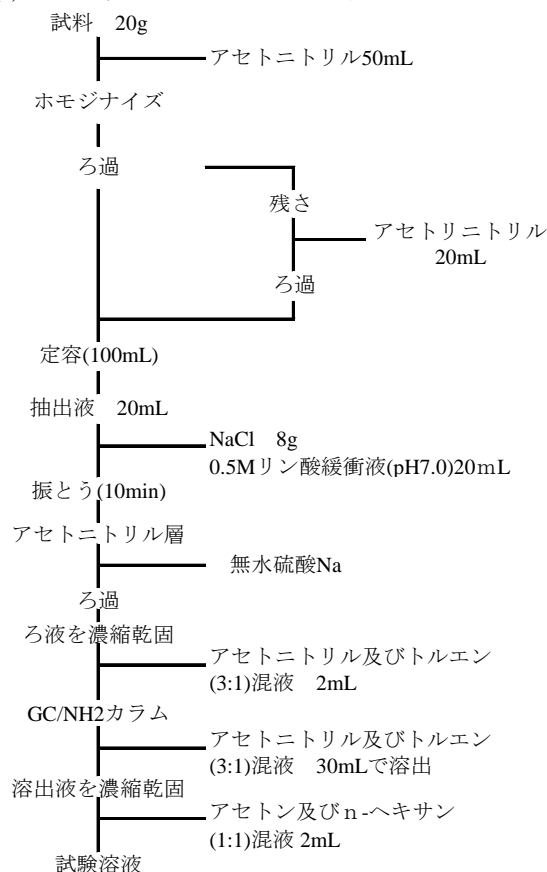


図 1 GC-MS/MS 用試験溶液の調製法

### 2.5.2 LC-MS/MS 用試験溶液の調製

LC-MS/MS 用試験溶液の調製法を図 2 に示した。

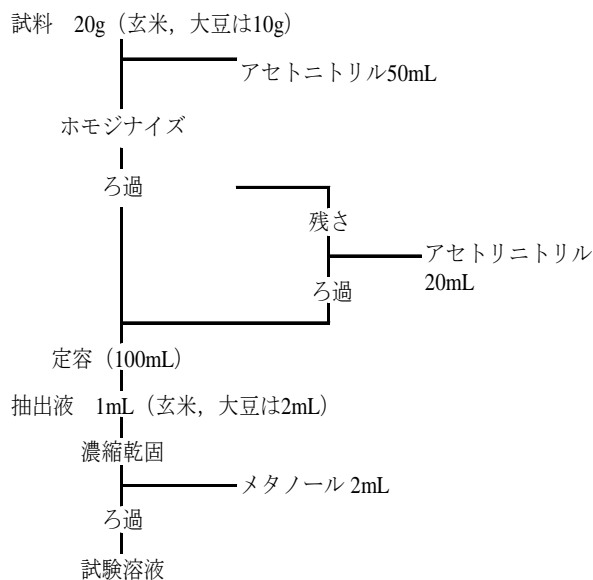


図 2 LC-MS/MS 用試験溶液の調製法

### 3 結果および考察

#### 3.1 標準品の添加濃度

ガイドラインでは一斉試験法については「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 濃度としてもよいと示されているため、一律基準濃度 (0.01ppm) および 0.1ppm の 2 濃度で評価試験を行った。

#### 3.2 評価結果

ガイドラインに基づき評価基準を満たした物質を表 3 に示した。GC-MS/MS での測定ではマトリックス標準液を用いて評価を行ったが、LC-MS/MS での測定では溶媒標準液で評価を行い、ガイドラインを満たさなかった項目に関しては再度マトリックス標準液で評価を行った。

作物により評価基準を満たした項目数は異なったが、マトリックス標準液を使用して評価することで、ガイドラインを満たす項目が増加した。

### 4 まとめ

本所で使用している GC-MS/MS および LC-MS/MS を用いた農産物中の残留農薬一斉試験法について、ガイドラインに従って一律基準濃度における妥当性評価を行っ

た。GC-MS/MS で 189 物質、LC-MS/MS で 106 物質がすべての性能パラメーターで目標値に適合した。

今回、えだまめ、ほうれんそう、大豆および玄米で妥当性評価を実施したが、農産物のマトリックスにより、適合する農薬数が異なる結果となったことから、様々な農産物で妥当性評価を行っていくことが望ましいと思われる。今後は、他の農作物での妥当性評価を実施していく予定である。

#### 文献

- 1)厚生労働省通知食安発第 1115001 号：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，平成 19 年 11 月 15 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)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
- 4)内山賢二，中村正規：GC-MS/MSによる農産物中残留農薬一斉試験法の妥当性評価，福岡市保健環境研究所報，31，86-94，2011

表3 妥当性評価ガイドラインを満たした物質

| 対象化合物                           | 測定機器              | 対象化合物       | 測定機器              | 対象化合物          | 測定機器              | 対象化合物       | 測定機器              |
|---------------------------------|-------------------|-------------|-------------------|----------------|-------------------|-------------|-------------------|
| ※ 1,1-ジクロロ-2,2-ビス(4-エチルフェニル)エタン | GC-MS/MS          | カフェントラゾンエチル | GC-MS/MS          | テトラジホン         | GC-MS/MS          | フルアクリリム     | GC-MS/MS          |
| (E)-フェリムゾン                      | LC-MS/MS          | カルバリル       | LC-MS/MS          | テニクロール         | GC-MS/MS          | フルキンコナゾール   | GC-MS/MS          |
| (Z)-フェリムゾン                      | LC-MS/MS          | カルボフラン      | GC-MS/MS          | テブコナゾール        | GC-MS/MS          | フルジオキソニル    | LC-MS/MS,GC-MS/MS |
| (E)-メトミノストロビン                   | GC-MS/MS          | キザロホップエチル   | LC-MS/MS          | テブフェノジド        | LC-MS/MS          | フルシトリネート    | GC-MS/MS          |
| (Z)-メトミノストロビン                   | GC-MS/MS          | キナルホス       | GC-MS/MS          | テブフェンピラド       | GC-MS/MS          | フルシラゾール     | GC-MS/MS          |
| cis-クロルデン                       | GC-MS/MS          | キノキシフェン     | GC-MS/MS          | テフルトリン         | GC-MS/MS          | フルトラニル      | GC-MS/MS          |
| trans-クロルデン                     | GC-MS/MS          | キノクラミン      | GC-MS/MS          | テフルベンズロン       | LC-MS/MS          | フルフェノクスロン   | LC-MS/MS          |
| EPN                             | GC-MS/MS          | キントゼン       | GC-MS/MS          | テルプトリン         | GC-MS/MS          | フルフェンビルエチル  | GC-MS/MS          |
| MC P B                          | LC-MS/MS          | クレソキシメチル    | GC-MS/MS          | テロラクロルピホス      | GC-MS/MS          | フルメツラム      | LC-MS/MS          |
| o, p'-DDD                       | GC-MS/MS          | クロジナホップ酸    | LC-MS/MS          | トリアジメノール       | LC-MS/MS          | フルリドン       | LC-MS/MS,GC-MS/MS |
| o, p'-DDE                       | GC-MS/MS          | クロチアジジン     | LC-MS/MS          | トリアジメホン        | GC-MS/MS          | ブレチラクロ      | GC-MS/MS          |
| o, p'-DDT                       | GC-MS/MS          | クロフェンテジン    | LC-MS/MS          | トリアスルフロン       | LC-MS/MS          | ブロシミドン      | GC-MS/MS          |
| p, p'-DDD                       | GC-MS/MS          | クロマゾン       | GC-MS/MS          | トリアレート         | GC-MS/MS          | ブロスルフロン     | LC-MS/MS          |
| p, p'-DDE                       | GC-MS/MS          | クロメブロップ     | LC-MS/MS          | トリクロルホン        | LC-MS/MS          | プロチオホス      | GC-MS/MS          |
| p, p'-DDT                       | GC-MS/MS          | クロランスラムメチル  | LC-MS/MS          | トリシクラゾール       | LC-MS/MS          | プロバクロー      | GC-MS/MS          |
| XMC                             | GC-MS/MS          | クロリムロンエチル   | LC-MS/MS          | トリフルスルフロメチル    | LC-MS/MS          | プロバジン       | GC-MS/MS          |
| α-BHC                           | GC-MS/MS          | クロルスルフロン    | LC-MS/MS          | トリフルミゾール       | GC-MS/MS          | プロパニル       | GC-MS/MS          |
| β-BHC                           | GC-MS/MS          | クロルタルジメチル   | GC-MS/MS          | トリフルミゾール代謝物    | GC-MS/MS          | プロバルギット     | GC-MS/MS          |
| γ-BHC                           | GC-MS/MS          | クロルピリホス     | GC-MS/MS          | トリフルラリン        | GC-MS/MS          | プロピコナゾール    | LC-MS/MS          |
| δ-BHC                           | GC-MS/MS          | クロルピリホスメチル  | GC-MS/MS          | トリフルキスルフロン     | LC-MS/MS          | プロビザミド      | GC-MS/MS          |
| α-クロルフェンピホス                     | GC-MS/MS          | クロルフェンピホス   | LC-MS/MS          | トルコホスメチル       | GC-MS/MS          | プロボキサ       | GC-MS/MS          |
| β-クロルフェンピホス                     | GC-MS/MS          | クロルフェンホス    | GC-MS/MS          | ナブタラム          | LC-MS/MS          | プロマシ        | LC-MS/MS          |
| アイオキシニル                         | LC-MS/MS          | クロルブファム     | GC-MS/MS          | ナプロバミド         | GC-MS/MS          | プロメトリン      | GC-MS/MS          |
| アクリナトリン                         | GC-MS/MS          | クロルフルアズロン   | LC-MS/MS          | ニトータルイソプロピル    | GC-MS/MS          | プロモキシニル     | LC-MS/MS          |
| アザコナゾール                         | GC-MS/MS          | クロルベンシド     | GC-MS/MS          | ノルフルラゾン        | GC-MS/MS          | プロモブチド      | GC-MS/MS          |
| アシフルオルフェン                       | LC-MS/MS          | クロロネルブ      | GC-MS/MS          | バクプロトラゾール      | GC-MS/MS          | プロモブピレート    | GC-MS/MS          |
| アジムスルフロン                        | LC-MS/MS          | クロロベンジレート   | GC-MS/MS          | バラチオン          | GC-MS/MS          | プロモホスエチル    | GC-MS/MS          |
| アジンホスメチル                        | GC-MS/MS          | シアナジン       | LC-MS/MS          | ハルフェンブックス      | GC-MS/MS          | プロモホスメチル    | GC-MS/MS          |
| アセタミプリド                         | LC-MS/MS          | シアノホス       | GC-MS/MS          | ハロキシホップ        | LC-MS/MS          | フロラスラム      | LC-MS/MS          |
| アセトクロール                         | GC-MS/MS          | ジエトフェンカルブ   | LC-MS/MS,GC-MS/MS | ハロスルフロメチル      | LC-MS/MS          | ヘキサコナゾール    | LC-MS/MS,GC-MS/MS |
| アゾキシストロビン                       | LC-MS/MS          | シクラニド       | LC-MS/MS          | ビコリナフェン        | GC-MS/MS          | ヘキサジン       | GC-MS/MS          |
| アトラジン                           | GC-MS/MS          | ジクロシメット     | GC-MS/MS          | ビテルタノール        | LC-MS/MS          | ヘキサフルムロン    | LC-MS/MS          |
| アニロホス                           | GC-MS/MS          | ジクロスラム      | LC-MS/MS          | ビフェントリン        | GC-MS/MS          | ヘキシチアゾクス    | LC-MS/MS          |
| アメトリン                           | GC-MS/MS          | ジクロスルファムロン  | LC-MS/MS          | ビペロニルブトキシド     | GC-MS/MS          | ペナラキシ       | GC-MS/MS          |
| アラクロー                           | GC-MS/MS          | ジクロトホス      | GC-MS/MS          | ビペロホス          | GC-MS/MS          | ペノキサコール     | GC-MS/MS          |
| アラマイト                           | GC-MS/MS          | ジクロフェンチオン   | GC-MS/MS          | ビラクロホス         | LC-MS/MS          | ペノキスラム      | LC-MS/MS          |
| アルドリン                           | GC-MS/MS          | ジクロホップメチル   | GC-MS/MS          | ビラズルフロエチル      | LC-MS/MS          | ヘプタクロ       | GC-MS/MS          |
| イオドスルフロメチル                      | LC-MS/MS          | ジクロルブロップ    | LC-MS/MS          | ビラフルフェンエチル     | GC-MS/MS          | ヘプタクロエポキシド  | GC-MS/MS          |
| イソキサチオン                         | GC-MS/MS          | ジスルホトンスルホニル | GC-MS/MS          | ビラダフェンチオン      | GC-MS/MS          | ベンコナゾール     | GC-MS/MS          |
| イソフェンホス                         | GC-MS/MS          | シノスルフロン     | LC-MS/MS          | ビリダベン          | GC-MS/MS          | ベンシクロ       | LC-MS/MS          |
| イソキサチオン                         | GC-MS/MS          | シハロホップブチル   | GC-MS/MS          | ビリブチカルブ        | GC-MS/MS          | ベンスルフロメチル   | LC-MS/MS          |
| イソプロカルブ                         | GC-MS/MS          | ジフェナミド      | GC-MS/MS          | ビリブキシフェン       | GC-MS/MS          | ベンダイオカルブ    | GC-MS/MS          |
| イブロベンホス                         | GC-MS/MS          | ジフルフェニカン    | GC-MS/MS          | ビリミカーブ         | LC-MS/MS,GC-MS/MS | ベンディメタリン    | GC-MS/MS          |
| イマザキン                           | LC-MS/MS          | ジフルベンズロン    | LC-MS/MS          | ビリミジフェン        | LC-MS/MS          | ベンフルラリン     | GC-MS/MS          |
| イマザリル                           | LC-MS/MS          | ジプロコナゾール    | LC-MS/MS          | (E)-ビリミノバックメチル | GC-MS/MS          | ベンフレセート     | GC-MS/MS          |
| インダノファン                         | LC-MS/MS          | ジプロジニル      | GC-MS/MS          | (Z)-ビリミノバックメチル | GC-MS/MS          | ホサロン        | GC-MS/MS          |
| ユニコナゾール-P                       | GC-MS/MS          | シマジン        | GC-MS/MS          | ビリミホスメチル       | LC-MS/MS,GC-MS/MS | ボスカリド       | GC-MS/MS          |
| エスプロカルブ                         | GC-MS/MS          | ジメタメトリン     | GC-MS/MS          | ビリメタニル         | GC-MS/MS          | ホスチアゼート     | LC-MS/MS          |
| エタメスルフロメチル                      | LC-MS/MS          | ジメチルピホス     | GC-MS/MS          | ビロキロン          | GC-MS/MS          | ホスファミドン     | GC-MS/MS          |
| エタルフルラリン                        | GC-MS/MS          | ジメテナミド      | LC-MS/MS,GC-MS/MS | ピンクゾリン         | GC-MS/MS          | ホスメット       | GC-MS/MS          |
| エチオン                            | GC-MS/MS          | ジメトエート      | LC-MS/MS          | フェナリモル         | GC-MS/MS          | ホメサフェン      | LC-MS/MS          |
| エディフェンホス                        | LC-MS/MS          | シメトリン       | GC-MS/MS          | フェニトロチオン       | GC-MS/MS          | ホラムスルフロ     | LC-MS/MS          |
| エトキサゾール                         | GC-MS/MS          | ジメビペレート     | GC-MS/MS          | フェノキサニル        | GC-MS/MS          | ホルクロルフェニユロン | LC-MS/MS          |
| エトキシスルフロ                        | LC-MS/MS          | シロマジン       | LC-MS/MS          | フェノチオカルブ       | GC-MS/MS          | ホレート        | GC-MS/MS          |
| エトフェンブックス                       | LC-MS/MS,GC-MS/MS | スピノシンA      | LC-MS/MS          | フェノブカルブ        | LC-MS/MS,GC-MS/MS | マラチオン       | GC-MS/MS          |
| エトフメセート                         | GC-MS/MS          | スルフェントラゾン   | LC-MS/MS          | フェンクローホス       | GC-MS/MS          | ミクロブタニル     | LC-MS/MS          |
| エトプロホス                          | GC-MS/MS          | スルホスルフロ     | LC-MS/MS          | フェンスルホチオン      | GC-MS/MS          | メカルバム       | GC-MS/MS          |
| エトリムホス                          | GC-MS/MS          | ターバシ        | GC-MS/MS          | フェンチオン         | GC-MS/MS          | メコブロップ      | LC-MS/MS          |
| エボキシコナゾール                       | GC-MS/MS          | ダイアジン       | GC-MS/MS          | フェントエート        | LC-MS/MS          | メソスルフロメチル   | LC-MS/MS          |
| オアラチオンメチル                       | GC-MS/MS          | ダイアレート      | GC-MS/MS          | フェンバレレート       | GC-MS/MS          | メタバシチアズロン   | LC-MS/MS          |
| オキサジアゾン                         | GC-MS/MS          | ダイムロン       | LC-MS/MS          | フェンビロキシメート     | LC-MS/MS          | メタミドホス      | LC-MS/MS          |
| オキサジキシル                         | GC-MS/MS          | チオベンカルブ     | LC-MS/MS,GC-MS/MS | フェンプロビモルフ      | GC-MS/MS          | メタラキシ       | LC-MS/MS          |
| オキサジクメホ                         | LC-MS/MS          | チジアズロン      | LC-MS/MS          | フェンヘキサミド       | LC-MS/MS          | メチダチオン      | GC-MS/MS          |
| オキサミル                           | LC-MS/MS          | チフェンスルフロメチル | LC-MS/MS          | フサライド          | GC-MS/MS          | メトキシクロー     | GC-MS/MS          |
| オメトエート                          | LC-MS/MS          | チフルザミド      | GC-MS/MS          | ブタクロ           | GC-MS/MS          | メトスラム       | LC-MS/MS          |
| オリザストロビン                        | LC-MS/MS          | チペルメトリン     | GC-MS/MS          | ブタミホス          | LC-MS/MS,GC-MS/MS | メトスルフロメチル   | LC-MS/MS          |
| オリザストロビン代謝物                     | LC-MS/MS          | ディルドリン      | GC-MS/MS          | ブブリメート         | GC-MS/MS          | メトラクロー      | GC-MS/MS          |
| オリザリン                           | LC-MS/MS          | テクナゼン       | GC-MS/MS          | フラザスルフロ        | LC-MS/MS          | メフェナセット     | GC-MS/MS          |
| カズサホス                           | GC-MS/MS          | テツホス        | GC-MS/MS          | フラチオカルブ        | LC-MS/MS          | メブロニル       | GC-MS/MS          |
| カフェンストール                        | LC-MS/MS          | テトラコナゾール    | GC-MS/MS          | フラムブロップメチル     | GC-MS/MS          | ルフェヌロン      | LC-MS/MS          |
| ※ 1,1-ジクロロ-2,2-ビス(4-エチルフェニル)エタン |                   |             |                   | プリミスルフロメチル     | LC-MS/MS          | レナシ         | GC-MS/MS          |