

高知県特産野菜11品目における残留農薬の多成分分析 — LC/MS/MS を用いた残留農薬分析法の検討 —

佐藤敦彦・島本文子*

Determination of pesticide residues in 11 special
product vegetables of Kochi by LC/MS/MS

Atsuhiko SATO and Fumiko SHIMAMOTO*

要 約

高知県の特産野菜11品目において、高知県農業技術センターにおける LC/MS/MS による残留農薬の多成分分析法を検討した。

1. LC-MS/MS (HPLC; 1200シリーズ, MS; 6410三連四重極型質量分析計, Agilent Technologies 製) で、農薬130成分についての最適な機器分析条件を確定した。
2. 固相抽出法では、C18ミニカラムおよび GC/NH₂ ミニカラムを組み合わせることで、11品目に対して74~79成分が分析可能であることが確認された。
3. QuEChERS 法では、11品目に対して80~109成分が分析可能であることが確認された。操作が簡易で迅速性に優れ、作物の出荷前調査などにおける残留農薬のスクリーニングに有用と考えられた。

キーワード: 残留農薬, QuEChERS 法, 多成分分析, LC-MS/MS

はじめに

平成18年に施行されたポジティブリスト制度により、約800種類の農薬成分が規制対象となった。近年では、農作物や加工食品の農薬残留事故の発生もあり、消費者の“食の安全・安心”に対する関心が年々高まっている。安全・安心な農作物を提供するためには、生産者側の出荷前調査や農薬残留事故への迅速な対応が重要であり、多成分の残留農薬を効率的・省力的に分析する技術が求められている。

分析機器においては、検出感度や同定能力の高い質量分析装置 (MS) の普及により、以前に比べて多くの農薬成分を分析できるようになった。厚生労働省では、塩析による脱水と固相抽出法 (Solid-Phase Extraction) と質量分析計を組み合わせた農薬多成分の一斉試験法 (通知試験法)³⁾を示しているが、脱水工程の液-液分配操作が煩雑で時間がかかる。そのため、より簡易で迅速な一斉分析法が必要とされている。

これまで、当センターでは県産農作物の安全確保のため、市場モニタリング調査を毎年行ってきた。多成分分析法については、島本ら⁴⁾が GC-MS による分析条件を検討してきたが、LC-MS/MS においては未検討であった。また、本県の特産野菜はマイナー作物も多く、これら作物の前処理法を検討した事例は少ない。

そこで、本県の特産野菜11品目に対する農薬の多成分分析を可能とするため、LC-MS/MS による最適な測定条件を明らかにするとともに、作物試料の前処理法として液-液分配を用いない固相抽出法および米国などで採用されている簡易・迅速性に優れた QuEChERS 法の検討を行ったので報告する。

材料および方法

1. 供試作物

メロン ‘雅春秋系’、キュウリ ‘ZQ-7’、オクラ ‘アーリーファイブ’、ピーマン ‘トサミド

* 現 高知県農業振興部環境農業推進課
2014年7月31日受理

リ', シシトウ '土佐じしビューティー', ナス '土佐鷹', ネギ (品種不明), ニラ (品種不明), オオバ (在来種), ミョウガ (在来種), ショウガ '土佐一' を用いた。

2. 供試試薬・器具

1) 農薬標準品

和光純薬工業製農薬混合標準液 PL-7-2, PL-8-1, PL-14-2, PL-15-1, PL-16-2 を使用した (計140成分)。これらをアセトニトリル, アセトニトリル/トルエン混液 (3:1 v/v) あるいは水に溶解, 希釈し, 標準溶液を調製した。

2) 試薬

アセトン (残留農薬試験用, 和光純薬工業製), アセトニトリル (残留農薬試験用, 和光純薬工業製), トルエン (残留農薬試験用, 和光純薬工業製), 超純水を用いた。

3) 器具

濾紙 (桐山ロート用 GFP95mm, 桐山製作所製), メンブレンフィルター (Minisart SRP15 0.20 μ m, Sartorius 製) を用いた。

3. 分析装置

1) LC-MS/MS 装置

高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析装置 (HPLC ; 1200シリーズ、MS ; 6410三連四重極型質量分析計、Agilent Technologies 製), データ処理装置 (Mass Hunter Workstation, Agilent Technologies 製) を用いた。

2) 機器分析条件

(1) LC 分析条件

カラムに ZORBAX Eclipse Plus C18 (粒径1.8 μ m, 内径3mm, 長さ100mm, Agilent Technologies 製) を使用し, カラム温度は40℃, 溶離液0.1%ギ酸含有10mM ギ酸アンモニウム (A液), アセトニトリル (B液) を用い, 流速は特に記載のない限り 0.6mL/min とした。グラジエント条件は, PL-7-2 のみ 0分 (B15%) → 11分 (B60%) → 25分 (B95%) → 32分 (B95%, 0.8mL/min), その他は 0分 (B15%) → 3分 (B30%) → 10分 (B50%) → 25分 (B80%) → 30分 (B95%, 0.8mL/min) とした。

(2) MS/MS 分析条件

イオン化法はエレクトロスプレー法 (ESI) を使用した。乾燥ガス (N_2) 温度は350℃, 乾燥ガス流量は12L/min とした。また, ネブライザ圧は50psig とし, キャピラリー電圧は4,000V、イオンソース温度は100℃, フラグメンター電圧は100V とした。

4. LC-MS/MS による機器分析条件の検討

2ppm の農薬混合標準溶液 5 μ L を LC-MS/MS に注入し, スキャン分析を行い, 各成分のプリカーサーイオンと検出時の極性を確認した。次にコリジョンエネルギー (CE) を 2~50まで段階的に変えながらプロダクトイオンスキャン分析を行い, プロダクトイオンと最大感度を示すコリジョンエネルギーを探索した。なお, 最大感度のプロダクトイオンを定量用イオン, 2番目を定性用イオンとした。また, 10~200ppb の範囲で5点検量線を作成し, 検出感度と直線性を確認した。

5. 固相抽出法による11品目への添加回収試験

1) 固相カラムの選定

(1) 脱水工程用カラムの選定

作物試料に含まれる水分を除去するため, 多孔性ケイソウ土カラム (InertSep K-solute, GL Science 製), C18ミニカラム (MEGA Bond Elut C18 1g/6mL, Agilent Technologies 製) を比較検討した。以下の方法で各画分の溶出液を採取し, 濃縮乾固後, アセトニトリル 2mL に定容し, メンブレンフィルターでろ過し, LC-MS/MS 分析を行った。溶出液中濃度から回収率を算出し, 回収率70~120%の成分を適用可能と判定した。

多孔性ケイソウ土カラムでは, 水に溶解させた 0.04ppm 標準溶液10mL を負荷し, 10分間放置した。その後, ヘキサン50mL (画分: H1) → ヘキサン50mL (H2) → 酢酸エチル50mL (EA1) → 酢酸エチル50mL (EA2) の順で溶出した。なお, PL-8-1, 15-1, 16-2 においては, ヘキサンでの溶出を省略した。

C18ミニカラム (アセトニトリル, 水 5mL で予備洗浄したもの) では, 水に溶解させた 0.04ppm 標準溶液10mL を負荷した。その後, アセトニトリル10mL (画分: AN1) → アセトニトリル10mL (AN2) → アセトニトリル10mL (AN3) の順で溶出した。

(2) 精製工程用カラムの選定

作物試料に含まれる色素などの夾雑物を除去するため、GC ミニカラム (GL-Pak Carbograph 500mg/6 mL, GL Science 製) と GC/NH₂ ミニカラム (InertSep Carbon/NH₂ 500mg/500mg/6 mL, GL Science 製) を比較検討した。以下の方法で各画分の溶出液を採取し、前項と同様にして適用性を判定した。

GC ミニカラムおよび GC/NH₂ ミニカラム (アセトニトリル/トルエン混液 (3 : 1 v/v) 5 mL で予備洗浄) とも、アセトニトリル/トルエン混液 (3 : 1 v/v) に溶解させた 0.04ppm 標準溶液 10mL を負荷し、溶出液 (画分: ANT1) を採取した。さらに、アセトニトリル/トルエン混液 (3 : 1 v/v) 10mL (ANT2) → アセトニトリル/トルエン混液 (3 : 1 v/v) 10mL (ANT3) で溶出した。

2) 11品目への添加回収試験

C18ミニカラムと GC/NH₂ ミニカラムを供試し、以下の方法で試料溶液を採取した。試料溶液については、LC-MS/MS 分析により、試料溶液中濃度から回収率を算出した。試験は 2 回行い、平均回収率が 50~150% の範囲の成分を定量可能と判定した。

磨砕均質化した作物試料 20g に 0.01ppm 相当の標準溶液を加え、アセトン 100mL を添加し、30 分振とう抽出した。GFP 濾紙を用いて抽出液を吸引ろ過し、ろ液をアセトンで 200mL に定容した。このうち 20mL を分取し、減圧濃縮した。この濃縮液を C18ミニカラム (アセトニトリル、水 5 mL で予備洗浄したもの) に負荷し、アセトニトリル 30mL で溶出させた。溶出液を減圧濃縮後、窒素ガスで乾固し、アセトニトリル/トルエン混液 (3 : 1 v/v) 10mL に溶解させた。さらに GC/NH₂ ミニカラム (アセトニトリル/トルエン混液 (3 : 1 v/v) 5 mL で予備洗浄) に負荷し、アセトニトリル/トルエン混液 (3 : 1 v/v) 30mL で溶出させ、溶出液を減圧濃縮後、窒素ガスで乾固した。これをアセトニトリル 2 mL に定容し、メンブレンフィルターでろ過した。

6. QuEChERS 法による 11品目への添加回収試験

11品目には色素成分など夾雑物の多い作物が多いため、これらに適した抽出用キット (サンプリーク QuEChERS EN メソッド抽出キット (硫酸マグネシ

ウム 4 g, 塩化ナトリウム 1 g, クエン酸ナトリウム 1 g, クエン酸二ナトリウムセスキ水和物 0.5g), Agilent Technologies 製) および分散 SPE キット (サンプリーク QuEChERS EN 分散 SPE キット (PSA 150mg, GCB 45mg, 硫酸マグネシウム 800mg), Agilent Technologies 製) を供試し、キットのマニュアルを参考に以下の方法で試料溶液を採取した。試料溶液については、LC-MS/MS 分析により、試料溶液中濃度から回収率を算出した。試験は 1 回行い、回収率が 50~150% の範囲の成分を定量可能と判定した。

磨砕均質化した作物試料 10g 相当を 50mL 容のポリプロピレン (PP) 製遠沈管に入れ、0.01ppm 相当の標準溶液を加えた。さらに、抽出キットの塩類パッケージとアセトニトリル 10mL を加えて 1 分間振とう抽出した後、遠心分離 (4000rpm, 5 min) し、上澄み液 4 mL を分散 SPE チューブに分取した。これを 1 分間振とう抽出した後、遠心分離 (4000rpm, 5 min) し、上澄み液をメンブレンフィルターでろ過した。

結 果

1. LC-MS/MS による機器分析条件の検討

LC-MS/MS 分析条件を検討した結果、農薬 130 成分についてプリカーサーイオンとプロダクトイオン、プロダクトイオンの検出に最適なコリジョンエネルギーを明らかにした。なお、これら 130 成分全てで 10ppb の検出が可能であり、検量線は R^2 値が 0.99 以上の高い直線性を示した (表 1)。オリザリンについては、プロダクトイオンを 1 種しか検出できなかったため、定性用イオンは設定しなかった。

残る 10 成分のうち、1-ナフタレン酢酸, MCPB, アバメクチン B1a, シラフルオルフェン, トリクロピルについてはイオンが検出できず、アシフルオルフェン, シクロプロトリン, スルフェントラゾン, フェリムゾン (E および Z 体) については検出感度不足であった。

2. 固相抽出法による 11品目への添加回収試験

1) 固相カラムの選定

(1) 脱水工程用カラムの選定

多孔性ケイソウ土カラム, C18ミニカラムを用いて農薬 130 成分の添加回収試験を実施した結果、それぞれ 101, 113 成分に適用可能であった (表 2)。

(2) 精製工程用カラムの選定

GC ミニカラム, GC/NH₂ ミニカラムを用いて
農薬130成分の添加回収試験を実施した結果, それ
ぞれ97, 78成分に適用可能であった (表2).

2) 11品目への添加回収試験

C18ミニカラムと GC/NH₂ ミニカラムを用いて,
11品目における農薬130成分の添加回収試験を実施
した結果, メロン78成分, キュウリ77成分, オクラ
76成分, ピーマン77成分, シシトウ77成分, ナス79
成分, ネギ77成分, ニラ76成分, オオバ79成分, ミョ
ウガ78成分, ショウガ74成分が定量可能であった.
なお, 酸性および高極性農薬成分 (PL-8-1,

PL-16-2) については検出できなかった (表3).

3. QuEChERS 法による11品目への添加回収試験

QuEChERS 法では, メロン82成分, キュウリ84
成分, オクラ89成分, ピーマン84成分, シシトウ87
成分, ナス81成分, ネギ109成分, ニラ108成分, オ
オバ100成分, ミョウガ84成分, ショウガ80成分で
定量可能であった (表4). また, 酸性および高極
性農薬成分 (PL-8-1, PL-16-2) を除いた場合,
メロン81成分, キュウリ81成分, オクラ82成分, ピー
マン81成分, シシトウ79成分, ナス80成分, ネギ81
成分, ニラ79成分, オオバ71成分, ミョウガ81成分,
ショウガ75成分で定量可能であった.

表1 LC-MS/MS 分析条件

項番	標準 溶液	成分名	イオン化 極性(+,-)	プリカーサー イオン(m/z)	定量用イオン		定性用イオン		検量線 R ²
					プロダクト イオン(m/z)	コリジョン エネルギー	プロダクト イオン(m/z)	コリジョン エネルギー	
1	PL-7-2	アザメチホス	+	324.8	182.9	15	111.8	20	0.9992
2		アジンホスメチル	+	318.0	132.2	10	160.0	10	0.9993
3		アニロホス	+	367.6	198.7	10	170.7	15	0.9994
4		イソキサフルトール	+	359.9	251.0	5	360.0	5	0.9999
5		イプロバリカルブ	+	320.8	119.0	15	203.0	5	0.9995
6		インドキサカルブ	+	527.7	292.8	10	248.5	10	0.9998
7		オリザリン	+	347.1	288.2	10			0.9951
8		クロキントセツトメキシル	+	336.0	238.0	10	191.9	20	0.9996
9		クロチアニジン	+	250.0	169.1	10	132.0	10	0.9998
10		クロマフェノジド	+	395.0	174.9	4	338.9	4	0.9999
11		クロリダゾン	+	221.8	91.9	30	76.8	30	0.9974
12		シアゾファミド	+	325.1	107.7	10	260.9	5	0.9996
13		シフルフェナムド	+	412.7	294.7	15	240.8	20	0.9993
14		シメコナゾール	+	293.7	69.8	15	73.0	15	0.9994
15		シメチリモール	+	210.0	70.9	30	97.9	30	0.9992
16		チアクロプリド	+	252.8	125.9	20	89.8	40	0.9991
17		チアベンダゾール	+	201.9	174.9	30	130.9	30	0.9993
18		チアメトキサム	+	292.0	211.0	10	132.0	15	0.9989
19		ナブロアニリド	+	291.8	170.8	5	119.7	20	0.9997
20		ピラゾリネート	+	439.0	91.1	10	229.0	10	0.9990
21	PL-8-1	ピリフタリド	+	318.9	138.9	30	82.8	40	0.9991
22		フェノキシカルブ	+	302.1	87.7	10	115.6	10	0.9997
23		ブタフェナシル	+	475.1	331.1	10	180.0	10	0.9992
24		フラナオカルブ	+	383.0	194.9	10	251.9	10	0.9998
25		ベンゾフェナップ	+	430.8	118.8	20	104.7	20	0.9999
26		メトキシフェノジド	+	368.7	148.9	10	90.0	40	0.9989
27		4-クロロフェノキシ酢酸	-	185.0	126.9	10	185.0	2	0.9934
28		アイオキシニル	-	369.8	126.9	40	214.9	30	0.9998
29		クロプロップ	-	199.0	127.0	10	71.0	4	0.9962
30		クロランスラムメチル	+	430.1	398.0	5	370.0	15	0.9998
31		ジクロスラム	+	406.1	160.9	30	377.9	5	0.9999
32		ジクロプロップ	-	233.0	161.0	5	124.8	20	0.9954
33		ジベレリン	-	345.1	143.1	30	239.1	10	0.9994
34		チジアズロン	+	221.1	102.1	10	127.9	15	0.9999
35		チフェンスルフロメチル	+	388.1	167.1	10	126.0	50	0.9993
36		ハロキシホップ	+	362.1	316.0	10	90.9	4	0.9967
37		フルメツラム	+	326.1	129.0	30	326.1	5	0.9998
38		フルロキシビル	-	253.0	194.9	10	233.1	10	0.9969
39		プロモキシニル	-	275.8	78.9	40	80.9	40	0.9999
40		フロラズラム	+	360.1	129.0	30	360.0	2	0.9999
41	PL-14-2	ホメサフェン	-	436.9	315.8	15	194.7	50	0.9993
42		ホルクロルフェニユロン	+	248.1	128.9	15	93.0	40	0.9999
43		メコプロップ (MCPP)	-	213.0	141.0	4	71.2	5	0.9966
44		アシベンゾラルSメチル	+	210.9	90.9	20	135.6	30	0.9970
45		アノキシストロビン	+	404.0	372.0	10	344.0	20	0.9985
46		イマザリル	+	298.0	68.8	20	158.7	20	0.9983
47		イミダクロプリド	+	256.5	175.7	15	209.6	15	0.9969
48		インダノファン	+	340.8	174.8	15	186.7	10	0.9976
49		オキサジクロメホン	+	376.8	161.0	10	190.9	10	0.9975
50		オキシカルボキシ	+	267.5	174.8	10	42.6	20	0.9988
51		カルプロバミド	+	336.0	291.8	15	158.6	20	0.9981
52		クミルロン	+	302.3	184.9	10	118.9	10	0.9989
53		クロロクストロン	+	291.7	71.8	20	45.8	20	0.9984
54		シクロエート	+	215.8	82.9	15	153.9	15	0.9996
55		スピノシンA	+	733.1	142.0	20	97.9	50	0.9982
56		スピノシンD	+	746.0	141.9	20	97.8	50	0.9989
57		ダイムロン	+	269.0	151.0	10	118.9	20	0.9990

58	チオジカルブ	+	355.0	87.9	5	107.8	5	0.9988
59	テトラクロルビンホス	+	365.8	126.7	10	108.6	40	0.9980
60	トリチコナゾール	+	318.6	69.8	10	124.6	30	0.9998
61	ピリミカルブ	+	239.0	71.9	20	182.0	10	0.9974
62	フェノキサプロップエチル	+	362.8	90.7	30	288.8	15	0.9980
63	フラメトビル	+	335.0	156.6	40	290.8	15	0.9989
64	フルフェノクスロン	+	488.8	157.7	20	140.7	50	0.9987
65	ヘキサフルムロン	—	459.0	438.7	5	174.8	30	0.9975
66	ベンシクロン	+	330.0	124.8	20	261.6	20	0.9989
67	ベンダイオカルブ	+	223.6	109.0	15	167.0	15	0.9990
68	ベントキサゾン	+	354.0	286.0	10	186.0	10	0.9993
69	メソミル	+	162.5	87.8	5	105.8	5	0.9981
70	メタベンズチアズロン	+	222.0	164.9	15	149.8	30	0.9989
71	メチオカルブ	+	225.7	168.8	3	120.7	20	0.9987
72	メバニピリム	+	224.0	76.9	40	41.7	40	0.9987
73	アルジカルブ	+	116.1	89.1	4	70.1	2	0.9995
74	アルドキシカルブ	+	240.2	86.0	15	76.0	10	0.9993
75	エボキシコナゾール	+	330.2	121.1	20	101.0	50	0.9998
76	オキサミル	+	237.2	72.1	20	90.0	2	0.9994
77	カルバリル	+	202.2	145.0	4	127.0	30	0.9991
78	カルボフラン	+	222.2	123.1	20	165.0	5	0.9986
79	キザロホップ－P－テフリル	+	444.3	299.0	15	100.1	20	0.9990
80	キザロホップエチル	+	373.2	299.1	15	271.0	20	0.9992
81	クロフェンテジン	+	303.1	138.0	10	102.1	40	0.9993
82	ジウロン	+	233.1	72.1	15	233.0	2	0.9989
83	ジフルベンズロン	+	311.0	157.9	5	140.6	30	0.9995
84	シプロジニル	+	226.2	108.0	30	93.1	40	0.9994
85	ジメトモルフ (E)	+	388.2	301.0	15	165.1	30	0.9988
86	ジメトモルフ (Z)	+	388.3	301.1	15	165.0	30	0.9987
87	PL-15-1 テブチウロン	+	229.2	172.1	15	116.1	30	0.9997
88	テブフェノジド	+	297.3	133.0	10	105.1	40	0.9996
89	テフルベンズロン	+	381.0	158.0	10	140.8	30	0.9992
90	トリフルムロン	+	359.1	155.8	15	138.8	15	0.9989
91	ノバルロン	+	493.2	157.8	10	141.1	10	0.9997
92	フェンアミドン	+	312.2	92.1	20	236.1	10	0.9986
93	フェンピロキシメート (E)	+	422.4	366.1	10	214.1	30	0.9995
94	フェンピロキシメート (Z)	+	422.3	366.2	10	214.1	30	0.9985
95	フルフェナセット	+	364.2	151.9	20	194.0	5	0.9993
96	フルリドン	+	330.2	309.1	40	294.1	50	0.9996
97	ヘキシチアゾクス	+	353.2	168.0	20	228.0	10	0.9994
98	ボスカリド	+	343.1	307.1	15	140.0	15	0.9989
99	モノリニユロン	+	215.2	126.0	15	148.2	10	0.9986
100	リニユロン	+	249.1	182.1	20	159.8	10	0.9997
101	ルフェメロン	—	508.9	326.0	15	174.9	40	0.9961
102	2,4-D	—	218.7	161.0	10	124.9	15	0.9973
103	MCPA	—	199.0	141.0	10	199.0	2	0.9971
104	アジメスルフロ	+	425.2	182.0	10	156.0	15	0.9975
105	イオドスルフロメチル	+	508.1	167.0	15	508.1	2	0.9980
106	イマゾスルフロ	+	413.2	153.0	5	156.1	15	0.9990
107	エタメスルフロメチル	+	411.2	196.1	10	168.1	30	0.9987
108	エトキシスルフロ	+	399.2	261.1	10	218.0	20	0.9983
109	クロジナホップ酸	—	310.0	238.0	5	218.0	15	0.9988
110	クロリムロンエチル	+	415.2	186.0	15	83.0	50	0.9980
111	シクロスルファミロン	+	422.2	261.0	10	218.1	20	0.9984
112	シノスルフロ	+	414.2	183.1	10	157.1	20	0.9995
113	スルホスルフロ	+	471.2	211.0	10	261.1	10	0.9960
114	トリアスルフロ	+	402.1	167.1	15	141.1	20	0.9996
115	トリフルスルフロメチル	+	493.2	264.1	20	96.0	50	0.9984
116	PL-16-2 トリフロキシスルフロ	+	438.2	182.1	15	257.0	15	0.9975
117	ナブタラム	+	292.2	144.0	1	149.0	10	0.9953
118	ハロスルフロメチル	+	435.2	181.8	20	435.2	2	0.9948
119	ピラソスルフロエチル	+	415.2	182.1	10	83.1	50	0.9958
120	フェンヘキサミド	+	302.2	97.1	20	55.1	40	0.9957
121	フラザスルフロ	+	408.2	182.0	15	226.8	15	0.9953
122	アリミスルフロメチル	+	469.2	253.9	20	199.0	15	0.9985
123	フルアジホップ	+	328.2	282.1	10	253.8	30	0.9939
124	プロスルフロ	+	420.2	141.1	20	167.1	10	0.9979
125	プロボキシカルバゾン Na塩	+	399.2	116.1	20	199.0	10	0.9973
126	ベノキスラム	+	484.2	195.0	30	163.9	30	0.9950
127	ベンスルフロメチル	+	411.2	149.1	20	182.1	20	0.9962
128	メソスルフロメチル	+	504.2	182.1	20	306.0	20	0.9964
129	メトスラム	+	418.1	175.0	30	189.8	20	0.9954
130	メトスルフロメチル	+	382.2	167.1	10	199.0	20	0.9984

※オリザリンについては、定性用イオン未検出

表2 固相カラム選定試験結果

※空欄については、未検計
※一：料率率10%未満

表3 固相抽出法による11品目への添加回収試験結果 (n=2)

項目	標準品名	成分名	回収率 (%)										
			メロン	キュウリ	オクラ	ピーマン	シシトウ	ナス	ネギ	ニラ	オシロイ	ミョウガ	ショウガ
1		アザメチホス	16	18	29	24	17	20	23	20	22	24	28
2	PL-7-2	アジンホスメチル	110	104	97	95	88	87	89	103	112	117	80
3		アニコホス	95	93	96	85	80	90	98	91	103	97	74
4		イソキサフルトール	95	89	101	85	79	91	95	92	103	137	73
5		イソバカリカルブ	101	98	100	91	87	98	103	98	103	104	110
6		インドキサカルブ	98	88	91	77	75	87	93	89	106	89	70
7		オリサリ	71	99	122	133	89	121	113	102	131	121	128
8		クロキニトットメキシル	100	97	99	87	83	96	104	98	101	98	102
9		クロキニトット	92	102	100	94	101	100	95	104	112	92	102
10		クロマフィノシド	98	97	98	87	83	98	104	97	102	103	100
11		クロリダグソ	88	89	87	79	80	95	91	82	92	24	98
12		シアゾファミド	95	97	99	85	82	92	94	99	102	—	142
13		シフルファミド	97	93	99	86	78	94	104	98	132	97	191
14		シメコナニル	100	103	90	105	107	103	106	106	104	100	95
15		シメコナニル	89	24	37	24	28	62	35	44	58	32	108
16		チアタロブ	93	87	91	83	89	94	94	94	101	97	107
17		チアベンゾニル	94	84	87	81	70	72	96	83	97	92	101
18		チアメトキス	92	91	92	85	85	95	95	97	99	105	95
19		チアロアニド	100	93	101	88	83	92	95	92	104	92	54
20		ピラゾリネート	31	23	21	24	20	23	34	32	36	30	39
21		ピリタリド	97	92	97	90	85	94	99	96	104	97	105
22		ピリタリド	94	88	94	83	80	88	93	88	105	91	59
23		ピラタロブ	101	98	100	91	87	98	103	101	103	130	139
24		ピラチオカルブ	98	88	91	77	75	87	93	89	106	89	70
25		ベンゾファミド	102	99	106	89	87	99	107	107	130	112	158
26		メトキシフェノシド	99	103	103	96	84	99	101	97	117	104	98
27	ピクロフェノキシ酸	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
28	アイオキシニル	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
29	クロロファン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
30	クロロファン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
31	クロロファン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
32	クロロファン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
33	シベリン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
34	チアアズロン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
35	チアベンゾニル	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
36	ハロキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
37	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
38	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
39	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
40	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
41	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
42	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
43	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
44	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
45	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
46	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
47	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
48	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
49	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
50	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
51	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
52	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
53	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
54	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
55	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
56	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
57	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
58	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
59	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
60	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
61	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
62	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
63	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
64	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
65	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
66	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
67	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
68	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
69	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
70	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
71	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
72	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
73	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
74	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
75	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
76	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
77	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
78	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
79	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
80	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
81	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
82	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
83	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
84	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
85	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
86	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
87	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
88	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
89	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
90	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
91	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
92	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
93	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
94	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
95	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
96	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
97	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
98	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
99	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
100	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
101	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
102	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
103	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
104	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
105	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
106	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
107	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
108	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
109	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
110	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
111	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
112	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
113	フルキサロブ	—	—	—	—	—	—	—	—</				

表4 QuEChERS 法による11品目への添加回収試験結果 (n=1)

項目	標準溶液	成分名	回収率 (%)										
			メロン	キュウリ	オクラ	ピーマン	シシトウ	ナス	ネギ	ニラ	オオバ	ミョウガ	ショウガ
1		アザメチナ素	74	89	106	88	110	82	105	89	123	92	91
2		アジンホスメチル	93	90	140	106	124	82	132	87	89	106	79
3		アノホス	100	98	109	100	109	96	117	122	121	102	90
4		イソキサフルトール	21	47	75	42	43	37	102	110	98	52	60
5		イソバカリホル	100	97	113	102	114	93	121	133	137	104	112
6		イソキサフル	108	110	124	113	121	102	148	153	170	114	193
7		ナリゲリン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8		クロロピリメチル	99	92	89	87	99	52	114	122	121	76	93
9		クロロピリメチル	87	101	89	94	110	90	93	191	121	95	119
10		クロロピリメチル	104	103	119	113	117	107	131	137	145	111	112
11		クロロピリメチル	74	72	222	94	90	85	105	85	87	93	93
12		クロロピリメチル	95	111	106	101	103	93	108	116	124	102	80
13		クロロピリメチル	103	93	92	89	78	97	108	113	112	68	94
14		クロロピリメチル	92	93	100	103	94	102	107	111	116	102	107
15		クロロピリメチル	105	93	81	96	92	80	100	111	116	102	107
16		クロロピリメチル	94	93	101	94	98	93	96	107	116	97	99
17		クロロピリメチル	81	90	71	86	99	64	108	105	103	85	100
18		クロロピリメチル	58	88	95	94	95	94	103	103	113	103	89
19		クロロピリメチル	90	85	110	91	94	106	128	136	146	79	58
20		クロロピリメチル	14	14	27	27	27	27	27	27	27	27	27
21		クロロピリメチル	104	101	117	105	121	85	134	131	135	105	114
22		クロロピリメチル	104	88	106	104	113	94	113	130	125	97	78
23		クロロピリメチル	97	95	115	109	122	112	82	173	221	113	178
24		クロロピリメチル	98	99	109	100	113	94	108	127	146	101	124
25		クロロピリメチル	100	96	138	100	146	81	126	158	188	100	178
26		クロロピリメチル	92	92	115	98	112	91	111	123	135	96	96
27		クロロピリメチル	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
28		クロロピリメチル	—	20	20	19	16	19	50	50	42	18	16
29		クロロピリメチル	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30		クロロピリメチル	28	31	43	29	35	30	58	63	85	29	33
31		クロロピリメチル	35	40	51	38	44	39	65	70	80	39	43
32		クロロピリメチル	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
33		クロロピリメチル	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
34		クロロピリメチル	23	39	25	37	52	16	66	70	41	47	53
35		クロロピリメチル	40	46	50	44	52	44	82	88	91	48	48
36		クロロピリメチル	45	41	—	46	47	47	49	49	51	44	—
37		クロロピリメチル	22	27	39	25	31	26	55	42	84	26	29
38		クロロピリメチル	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
39		クロロピリメチル	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
40		クロロピリメチル	28	40	45	37	45	39	91	73	94	37	40
41		クロロピリメチル	45	45	42	33	49	49	56	102	162	24	40
42		クロロピリメチル	49	60	47	58	74	27	86	86	104	53	75
43		クロロピリメチル	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
44		クロロピリメチル	99	102	115	92	111	81	77	97	185	99	129
45		クロロピリメチル	94	99	103	96	100	93	114	114	134	95	104
46		クロロピリメチル	112	103	117	110	114	101	98	86	116	115	113
47		クロロピリメチル	105	90	110	79	184	131	150	133	214	118	187
48		クロロピリメチル	108	88	114	99	124	124	134	124	124	101	57
49		クロロピリメチル	103	108	112	108	111	108	126	129	137	101	135
50		クロロピリメチル	56	77	100	68	96	60	93	98	133	77	105
51		クロロピリメチル	106	105	114	102	108	90	91	130	133	109	122
52		クロロピリメチル	69	97	107	98	105	95	119	123	123	97	100
53		クロロピリメチル	100	69	110	99	111	93	106	125	123	100	108
54		クロロピリメチル	100	105	116	107	117	100	130	126	117	102	103
55		クロロピリメチル	118	118	111	125	124	100	141	143	170	119	120
56		クロロピリメチル	121	128	116	136	136	104	143	156	170	135	126
57		クロロピリメチル	100	100	109	100	105	99	123	126	122	102	92
58		クロロピリメチル	92	101	114	106	121	100	41	125	144	105	131
59		クロロピリメチル	102	101	111	103	105	93	117	125	123	101	100
60		クロロピリメチル	107	110	119	111	111	104	128	131	139	111	120
61		クロロピリメチル	105	98	104	99	100	92	108	122	116	99	82
62		クロロピリメチル	88	83	107	108	113	69	122	115	144	85	111
63		クロロピリメチル	105	103	114	113	113	91	132	132	169	109	120
64		クロロピリメチル	113	139	131	112	112	85	126	135	183	100	144
65		クロロピリメチル	90	88	91	97	105	61	113	143	141	87	105
66		クロロピリメチル	96	93	114	97	117	89	131	128	135	97	108
67		クロロピリメチル	84	85	96	82	86	83	87	89	103	85	89
68		クロロピリメチル	74	64	150	96	131	104	111	130	112	100	95
69		クロロピリメチル	93	94	92	91	86	91	113	101	95	91	85
70		クロロピリメチル	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92
71		クロロピリメチル	98	93	108	102	114	92	107	118	109	95	75
72		クロロピリメチル	103	86	74	88	95	47	118	118	130	73	92
73		クロロピリメチル	101	104	109	106	101	109	108	117	115	110	105
74		クロロピリメチル	106	108	110	106	109	112	122	117	119	108	104
75		クロロピリメチル	93	97	88	94	78	94	99	108	78	97	90
76		クロロピリメチル	108	113	110	108	113	114	124	119	115	112	110
77		クロロピリメチル	93	98	108	93	105	91	113	116	116	95	106
78		クロロピリメチル	93	97	92	92	92	92	92	92	92	92	92
79		クロロピリメチル	99	97	95	95	107	51	121	121	130	81	85
80		クロロピリメチル	92	94	96	99	102	63	113	122	140	84	104
81		クロロピリメチル	90	83	98	77	69	63	105	112	129	73	42
82		クロロピリメチル	98	102	91	103	102	93	86	126	141	96	91
83		クロロピリメチル	75	100	116	87	96	87	122	124	127	86	98
84		クロロピリメチル	98	90	118	99	99	99	103	103	103	73	86
85		クロロピリメチル	100	105	108	102	106	107	125	125	125	105	96
86		クロロピリメチル	107	110	115	105	122	114	128	134	156	112	146
87		クロロピリメチル	96	101	109	98	102	102	102	114	118	101	102
88		クロロピリメチル	100	105	110	103	114	110	128	130	138	106	109
89		クロロピリメチル	55	86	91	79	79	56	105	112	141	69	133
90		クロロピリメチル	102	96	110	115	106	107	123	121	133	95	100
91		クロロピリメチル	99	90	116	116	109	90	117	118	119	95	117
92		クロロピリメチル	108	102	115	105	117	113	132	132	144	106	119
93		クロロピリメチル	105	105	109	105	110	108	126	125	154	104	146
94		クロロピリメチル	103	103	105	105	108	107	125	125	153	103	144
95		クロロピリメチル	108	111	110	105	111	115	124	127	130	110	37
96		クロロピリメチル	103	105	109	103	111	106	125	127	129	105	111
97		クロロピリメチル	105	110	112	106	109	118	126	125	129	107	103
98		クロロピリメチル	100	107	108	101	110	107	113	124	127	98	75
99		クロロピリメチル	106	104	107	101	107	106	91	114	128	104	100
100		クロロピリメチル	95	94	89	95	84	91	72	106	114	87	77
101		クロロピリメチル	82	105	91	102	94	59	113	110	118	80	115
102		クロロピリメチル	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
103		クロロピリメチル	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
104		クロロピリメチル	18	28	31	27	33	26	58	76	80	30	27
105		クロロピリメチル	17	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27
106		クロロピリメチル	16	26	27	27	27	26	54	54	54	24	24
107		クロロピリメチル	15	22	40	19	29	18	38	46	97	19	21
108		クロロピリメチル	24	32	31	29	35	32	49	52	77	31	32
109		クロロピリメチル	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
110		クロロピリメチル	17	29	39	25	36	20	6				

考 察

農薬130成分のLC-MS/MSによる分析条件が明らかとなったことにより、当センターにおいて、これらを対象とした多成分分析が可能になった。なお、今回分析不可能であった10成分については、イオン化法や同時分析成分数を減らすなど別条件を検討することで、LC-MS/MSによる分析が可能になると考えられたが、本試験においては同一メソッドによる多成分分析を目的としたため、これら成分については分析対象から除外した。

固相抽出法に用いる脱水工程用カラムについては、多孔性ケイソウ土カラムの溶出溶媒として、ヘキサンを用いて農薬55成分への適用性を検討したところ、70～120%の回収率が得られたのは28成分のみであり、多種多様な物理化学性を有する農薬の多成分分析には低極性のヘキサンは不適であると考えられた。また、高極性の酢酸エチルを溶出溶媒として用いることで、調査した農薬130成分のうち100成分を越える農薬へ適用可能であったが、C18ミニカラムではさらに多くの成分へ適用可能であった。よって、脱水工程用カラムにはC18ミニカラムがより適していると考えられた。

また、精製工程用カラムについては、酸性および高極性農薬成分（PL-8-1、PL-16-2）以外の成分については、GCミニカラムおよびGC/NH₂ミニカラムの適用性はほぼ同等であった。しかし、アミノプロピルを有するGC/NH₂ミニカラムでは、酸性および高極性農薬成分の回収がほとんどできず、調査した農薬130成分のうち適用可能な成分数についてはGCミニカラムの方が多いことが明らかとなった。一方、高知県の特産野菜11品目には色素成分など夾雑物の多い作物が多く、GCミニカラムを用いた場合には、夾雑物の除去が不十分で試料溶液の色が非常に濃くなるため、LC-MS/MSのイオン導入部の汚染やマトリックス効果による感度低下が懸念された。分析中の極度の感度低下は定量を不可能とするため、精製工程用カラムとしてGC/NH₂ミニカラムを選択した。11品目を用いた添加回収試験にC18ミニカラムおよびGC/NH₂ミニカラムを組み合わせることで、74～79成分の多成分分析が可能と考えられた。

QuEChERS法はAnastassiadesらによって開発された簡易前処理法である¹⁾。アセトニトリル塩析工程とdispersive SPE工程を基本として構成され、

濃縮工程を伴わないため、非常に迅速性に優れた前処理法とされる。今回検討した固相抽出法では、前処理として、各カラム精製と濃縮乾固にそれぞれ10分、さらに諸操作を含め1試料当たり1時間以上の時間を要した。これに対しQuEChERS法では、抽出に1分、遠心分離に10分程度と諸操作を含め1試料当たり30分程度の時間で処理を完了することができた。11品目を用いた添加回収試験にQuEChERS法を用いることで、80～109成分の多成分分析が可能と考えられ、固相抽出法より優れた性能を示した。

今回検討した固相抽出法ではC18、グラファイトカーボン、NH₂の3種、QuEChERS法ではグラファイトカーボン、PSAの2種の固相を使用しており、特に陰イオン交換性を有するNH₂とPSAでは、PSAでより極性が低く、NH₂に非常に強く保持される極性化合物の分離が可能となるため、このような性質が酸性および高極性農薬成分の回収に影響したと考えられた²⁾。

本試験の結果から、高知県特産野菜11品目についてはQuEChERS法による前処理法が処理時間、分析可能成分数とも優れ、今後は本法を用いて多成分の一斉分析を行うことが有効と考えられた。一方、スクリーニングで検出された農薬については、厚生労働省の通知試験法である個別試験法などによって定量される。この通知試験法は妥当性を確認することにより、溶媒抽出以外の工程を変更することが可能である。通知試験法では液-液分配を採用しているものも多く、本試験において固相抽出法で検討した各カラムにおける農薬成分の溶出条件を利用し、試料の脱水・精製工程の効率化に役立てることができると考えられた。

以上より、高知県特産野菜11品目の残留農薬のスクリーニングにおいて、QuEChERS法を用いた簡易分析法が可能となった。今後は生産現場の使用実態を考慮した対象成分数の拡大を検討し、さらなる生産物の安全性確保に努めたい。

引用文献

- 1) Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., Schenck, F. J. (2003). Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce. J. AOAC Int. 86: 412-

431. 留分析法【改訂版】. 中央法規出版株式会社, 東京. PP.982-983.
- 2) ジーエルサイエンス固相抽出ガイドブック編集委員会 (2012). 固相抽出ガイドブック. ジーエルサイエンス株式会社. 東京. PP.157, 256-257, 265-266.
- 4) 島本文子・市原 勝・大崎佳徳 (2004). 施設果菜類に使用される農薬の多成分同時分析法. 高知農技セ研報. 13 : 39-48.
- 3) 農薬残留分析法研究班 (2006). 最新農薬の残

Summary

The pesticide residues of 11 special product vegetables of Kochi from the Kochi agricultural research center were investigated.

1. We determined the optimal analytical settings for 130 types of pesticide residues by LC-MS/MS (HPLC; 1200 series, MS; 6410 triple-quadrupole mass spectrometer, Agilent Technologies).
2. Using a solid-phase extraction method, 74 to 79 types of pesticide residues from the 11 vegetables were analyzed with a C18 mini column and GC/NH₂ mini column.
3. Using the simple and quick QuEChERS method, 80 to 109 types of pesticide residues from the 11 vegetables were analyzed. The operation is promising for screening of the pesticide residues before shipment of the 11 vegetables.

Key words: pesticide residues, QuEChERS method, LC-MS/MS