

高知野菜11品目における残留農薬の多成分分析

農業技術センター

〔背景・ねらい〕

食の安全性に対する消費者の関心は年々高くなっており、“安全・安心”を提供する手段の一つとして、残留農薬分析のニーズが高まっている。一方、ポジティブリスト制度の導入以降、検出感度や同定能力の高い高速液体クロマトグラフ質量分析装置LC-MS/MSが急速に普及し、これまで以上に多くの農薬成分が検出できるようになった。しかし、多成分を正確に測定するためには、個々の成分について最適な測定条件を明らかにするとともに、作物特有の夾雑物を除去するための前処理方法を確立する必要がある。そこで、本県の特産野菜11品目に適した残留農薬分析法を確立する。

なお、これまでの多成分分析については、最適な前処理法と測定条件の検討が行われていなかった。

〔新技術の内容・特徴〕

1. 高知県産主要野菜11品目において、固相カラム法あるいはQuEChERS法を用いて、それぞれの品目で農薬100成分以上を分析できる一斉分析法を確立した。
2. 分析機器はLC-MS/MS(Agilent社製1200シリーズ、6410B)を用いる。
3. LC-MS/MS分析条件は表1、2のとおりとし、グラジエント条件と試料注入量との4種の条件を設定することで168成分の分析が可能である。
4. 高知野菜11品目を対象とし、固相カラム法、QuEChERS法を用いることで0.01ppmオーダーまで定量分析が可能である。
 - 1) 固相カラム法で前処理を行うことで、農薬104～113成分の分析が可能である(図1、表3)
 - 2) QuEChERS法で前処理を行うことで、農薬110～141成分の分析が可能である(図2、表4)。
5. 固相カラム法は一般的な分析法として実績があり、残留農薬の定量へ活用できる。また、QuEChERS法は操作の簡易・迅速性に優れており、スクリーニングへ活用できる。

〔留意点〕

1. LC-MS/MS分析条件は、使用機器のメーカーや機種によって異なる場合がある。
2. 高知野菜11品目として、メロンは‘雅春夏系’、キュウリは‘ZQ-7’、オクラは‘アーリーファイブ’、ピーマンは‘トサミドリ’、シシトウは‘土佐じしビューティ’、ナスは‘土佐鷹’、ネギとニラは市販品、オオバとミョウガは在来種、ショウガは‘土佐太一’を使用した。添加回収試験は0.01ppmで実施し、固相カラム法は2反復、QuEChERS法は無反復で実施した。
3. C18ミニカラムはMEGA Bond Elut C18 1g/6mL(Agilent Technologies社製)、GC/NH2ミニカラムはInert Sep Carbon/NH2 500mg/500mg/6mL(GL Sciences社製)を用いた。
4. QuEChERS法には、サンプリークQuEChERS ENメソッド抽出キット、EN分散SPEキット(いずれもAgilent Technologies社製)を用いた。

〔評 価〕

高知野菜11品目における農薬残留事故対応および市場モニタリング調査のスクリーニングに活用できる。また、添加回収試験による確認を行うことで、他品目への適用が可能である。

[具体的データ]

表1 機器分析条件

分析機器	液体クロマトグラフ：LC1200シリーズ(Agilent社製)
	質量分析計：6410B(Triple Quad, Agilent社製)
カラム	ZORBAX Eclipse Plus C18
	(粒径 1.8 μ m, 寸法 3.0mm $\times$ 100mm, Agilent社製)
カラム温度	40℃
移動相	A;0.1%ギ酸含有10mMギ酸アンモニウム B;アセトニトリル
流速	0.5mL/min
グラジエント条件	① 0分(B15%)→11分(B60%)→25分(B95%)→32分(B95%, 0.8mL/min) ②③ 0分(B15%)→3分(B30%)→10分(B50%)→25分(B80%)→30分(B95%, 0.8mL/min) ④ 0分(B5%)→5分(B15%)→20分(B95%)→30分(B95%, 0.8mL/min)
試料注入量	①② 5 μ L ③ 4 μ L ④ 3 μ L

注) グラジエント条件と試料注入量については、同じ番号のものを各分析条件として設定

表2 LC-MS/MS分析条件の一例(2011～2013)

項番	分析成分名	イオン化 極性(+,-)	プリカーサー イオン(m/z)	フラグメンター 電圧(V)	定量用イオン		定性用イオン		分析 条件
					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	2,4-D	-	218.7	100	161.0	10	124.9	15	③
2	DMTP	+	303.0	60	145.0	2	85.1	15	④
3	アセタミプリド	+	223.1	100	126.0	20	90.0	35	③
4	イミダクロプリド	+	256.5	100	175.7	15	209.6	15	②
5	クレソキシムメチル	+	314.1	80	267.1	2	222.1	10	③
6	クロチアニジン	+	250.0	100	169.1	10	132.0	10	①
7	クロラントラニリブロール	+	483.9	100	286.0	10	453.1	15	④
8	シアゾファミド	+	325.1	100	107.7	10	260.9	5	①
9	シメコナゾール	+	293.7	100	69.8	15	73.0	15	①
10	ダイアジノン	+	305.1	80	170.1	20	97.0	35	④
11	チアメトキサム	+	292.0	100	211.0	10	132.0	15	①
12	テブコナゾール	+	308.2	130	125.0	40	70.0	20	③
13	トルクロホスメチル	+	301.0	100	125.0	15	268.9	10	④
14	ピラゾスルフロンエチル	+	415.2	100	182.1	10	83.1	50	③
15	フルトラニル	+	324.1	100	262.1	15	242.1	25	④
16	プロシミドン	+	284.0	140	256.0	15	95.1	30	③
17	ボスカリド	+	343.1	100	307.1	15	140.0	15	③
18	ホスチアゼート	+	284.6	80	228.1	2	104.0	15	③
19	メソミル	+	162.5	100	87.8	5	105.8	5	②
20	メパニピリム	+	224.0	100	76.9	40	41.7	40	②

注) 分析条件は表1参照

秤 取	
	磨砕均質化試料 20g(あるいは試料 20g 相当の 1 : 1 試料)を採取
	アセトン 150mL を添加
	30 分振とう抽出
	減圧吸引ろ過 (ろ紙 : GFP)
	アセトンで 200mL に定容
↓	内 20mL (試料 2g 相当)を減圧濃縮
C18 ミニカラム	(Agilent MEGA Bond Elut C18 1g/6mL)
	アセトニトリル 5mL、水 5mL で予備洗浄
	濃縮液を負荷
	1 分間通気乾燥
	アセトニトリル 30mL で溶出
	減圧濃縮、窒素乾固
↓	アセトニトリル/トルエン (v/v 3 : 1) 10mL に溶解
GC/NH2 ミニカラム	(GLScience InertSep Carbon/NH2 500mg/500mg/6mL)
	試料溶液を負荷
	アセトニトリル/トルエン (v/v 3 : 1) 30mL で溶出
↓	減圧濃縮、窒素乾固
LC-MS 定量	
	フィルタろ過
	アセトニトリル 2mL に定容

図1 固相カラム法による添加回収試験法

秤 取	
↓	磨砕均質化試料 20g を採取 (試料 10g 相当)
サンプリーク QuEChERS EN メソッド抽出キット	(Agilent 5982-5650)
	アセトニトリル 10mL を添加 (MR は 9mL)
	1 分間振とう (手振り) 抽出
↓	遠心分離 (4000rpm、5 分間)
サンプリーク QuEChERS EN 分散 SPE キット	(Agilent 5982-5356)
	上澄み液 4mL を分取
	1 分間振とう (ボルテックス) 抽出
↓	遠心分離 (4000rpm、5 分間)
LC-MS 定量	
	上澄み液をフィルタろ過

図2 QuEChERS法による添加回収試験法

表3 固相カラム法による高知野菜11品目への農薬添加回収試験結果(2013)

回収率	農薬成分数										
	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
分析可能*	110	111	109	111	111	113	111	109	112	112	104
50%未満	54	54	55	54	54	52	54	54	51	53	56
150%超過	1	0	1	0	0	0	0	2	2	0	5

※：回収率が50～150%のもの

(補足資料 <http://www.nogyo.tosa.pref.kochi.lg.jp/info/dtl.php?ID=6686>)

表4 QuEChERS法による高知野菜11品目への農薬添加回収試験結果(2013)

回収率	農薬成分数										
	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
分析可能*	114	116	121	117	120	113	141	139	130	116	110
50%未満	49	47	41	47	42	52	21	20	17	47	48
150%超過	2	2	3	1	3	0	3	6	18	2	7

※：回収率が50～150%のもの

(補足資料 <http://www.nogyo.tosa.pref.kochi.lg.jp/info/dtl.php?ID=6686>)

[その他]

研究課題名：高知野菜11品目の残留農薬一斉分析法の開発

研究期間：平成23～25年度、 予算区分：県単

研究担当：農薬管理担当

分類：普 及