

LC-MS/MS を用いた農産加工食品中の酸性農薬一斉分析法

Simultaneous Analytical Method for Acidic Pesticides in Processed Agricultural Foods Using LC-MS/MS

羽賀 美優 岡部 亮 中島 千歳
高橋 諒 青柳 光敏

Miyu HAGA, Ryo OKABE, Chitose NAKASHIMA,
Ryo TAKAHASHI and Mitsutoshi AOYAGI

Acidic pesticides such as phenoxy and sulfonylurea herbicides are used worldwide, and cases of violation of the food sanitation act related to acidic pesticides in imported foods were reported by the Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW). Therefore, it is important to develop a monitoring system for acidic pesticides. There are several examples of analytical methods for acidic pesticides in fresh agricultural foods, such as the multiresidue method notified by the MHLW, and several reports from other research institutes. However, processed agricultural foods are not covered by these analytical methods, as they contain more impurities than fresh agricultural foods.

In this study, simultaneous analytical method for acidic pesticides in processed agricultural foods using LC-MS/MS was developed. The method includes extraction with acetonitrile, salting out clean up with C18 and SAX/PSA cartridges. With the Japanese method validation guideline for pesticide residues as a reference, the method was assessed in 9 processed agricultural foods (red wine, sweet roasted chestnuts, orange marmalade, crackers, canned corn, canned tomatoes, pasta, canned peaches and mung bean vermicelli) spiked with 62 pesticides at 0.01 mg/kg. Compounds were extracted from 2 samples on 5 separate days. The trueness of method for 58 or more pesticides in all samples was 70-120%, and the repeatability and within-run reproducibility were also consistent with the guideline. This method is available as a simultaneous analytical method for acidic pesticides in processed agricultural foods.

Key words : simultaneous analytical method (一斉分析法) ; acidic pesticide (酸性農薬) ; processed agricultural food (農産加工食品) ; LC-MS/MS (液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計)

緒 言

我々は、これまでに農産加工食品を対象とする残留農薬一斉分析法^{1,2)}を開発し、道内に流通する輸入農産加工食品の残留農薬検査に活用してきた。それらの分析対象化合物は塩基性及び中性の農薬が中心であり、酸性の農薬は精製操作において回収困難であるため分析対象外であった。しかし、酸性農薬にはフェノキシ系やスルホニルウレア系の除草剤など国内外で広く用いられる農薬が含まれている。酸性農薬の輸入食品における基準値超過の違反事例としては、2015～2024年の10年間では、生鮮カカオ、生鮮キウイ及びそば等の食品から検出された、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸、ハロキシホップ、フェンヘキサミド、フルアジホップ及びメトスルフロンメチル等が挙げられる³⁾。これらのことから、酸性農薬の検査体制の整備は重要である。生鮮農産品中の酸性農薬を対象とする一斉試験法として、厚生労働省から通知された「LC/MSによる農薬等の

一斉試験法Ⅱ（農産物）」⁴⁾や他の研究機関からの複数の報告⁵⁻⁷⁾がある。しかしながら、当所で検査対象としている農産加工食品は、生鮮農産品と比べて夾雑成分が多く、適用対象外である。そこで今回、農産加工食品に適用可能なLC-MS/MSを用いた酸性農薬の多成分一斉分析法を新たに開発した。開発した分析法の妥当性評価を9種類の農産加工食品を用いて実施したところ、良好な結果が得られたので報告する。

方 法

1. 試薬等

混合標準品（各成分20 mg/L）：富士フィルム和光純薬(株)製農薬混合標準液 PL-8-1 及び PL-16-2 を用いた。

標準品：上記の各混合標準液に含まれていない農薬の標準品は、林純薬工業(株)製、富士フィルム和光純薬(株)製、Dr. Ehrenstorfer GmbH 製及び MERCK 社製を用いた。

標準原液：各標準品 10 mg を精ひょうし、アセトニト

リルに溶解して 1,000 mg/L とした。

添加用標準溶液：各標準原液をアセトニトリルで希釈して 50 mg/L の標準溶液を調製した。この各標準溶液と各混合標準品を混合し、アセトニトリルで希釈して 0.2 mg/L とした。

検量線用標準溶液：添加用標準溶液の溶媒を窒素気流下で除去した後、メタノールで再溶解し、同溶媒で適宜希釈して 0.02、0.03、0.04、0.05 及び 0.06 mg/L とした。

試薬及び溶媒：LC-MS/MS 移動相に用いたメタノールは関東化学(株)または富士フイルム和光純薬(株)製 LC/MS 用を、水は関東化学(株)製 LC/MS 用を、酢酸アンモニウムは富士フイルム和光純薬(株)製特級を用いた。試験溶液調製に用いた有機溶媒は関東化学(株)または富士フイルム和光純薬(株)製残留農薬試験用を、水は関東化学(株)または富士フイルム和光純薬(株)製高速液体クロマトグラフ用を、塩化ナトリウム、硫酸マグネシウム七水和物、りん酸、りん酸二水素ナトリウム二水和物及びギ酸は富士フイルム和光純薬(株)製試薬特級を用いた。トリエチルアミンは関東化学(株)製鹿特級を、ケイソウ土は関東化学(株)または富士フイルム和光純薬(株)製セライト 545 を用いた。炭酸水素ナトリウムは MERCK 社製 SIGMA-ALDRICH 試薬特級を用いた。塩酸はナカライテスク(株)製試薬特級を用いた。

1 mol/L りん酸緩衝液 (pH 2.1) はりん酸 3.4 mL 及びりん酸二水素ナトリウム二水和物 7.8 g を蒸留水で 100 mL として調製した。

固相抽出用ミニカラム：Agilent Technologies 社製 MEGA BE-C18 (1 g、6 mL) (以下、C18 ミニカラムとする) をあらかじめアセトニトリル 10 mL でコンディショニングした後、用いた。MERCK 社製 SUPELCO Supelclean SAX/PSA (500 mg/500 mg、6 mL) (以下、SAX/PSA ミニカラムとする) をあらかじめアセトン-ヘキサン (1:1) 混液 10 mL でコンディショニングした後、用いた。MERCK 社製 SUPELCO ENVI-Carb/LC-NH₂ (500 mg/500 mg、6 mL) (以下、GCB/NH₂ ミニカラムとする) をあらかじめアセトニトリル-トルエン (3:1) 混液 10 mL でコンディショニングした後、用いた。Agilent Technologies 社製 Bond Elute Jr-PSA (500 mg) (以下、PSA ミニカラムとする) をあらかじめアセトン-ヘキサン (1:1) 混液 10 mL でコンディショニングした後、用いた。

2. 装置

フードプロセッサーはパナソニック(株)製フードプロセッサー MK-K60P を、ミキサーはパナソニック(株)製業務用ミキサー MX-152SP を、粉碎機は大阪ケミカル(株)製小型強力粉碎機フォースミル Y-308B を、ホモジナイザーは(株)日本精機製作所製エースホモジナイザー AM-7 を、振とう機はタイテック(株)製ストロングシェーカー SR-2ew を、遠心機は久保田商事(株)製ユニバーサル冷却遠心機 5930 を、LC-MS/MS は(株)島津製作所製の LCMS-8050 (LC 部：Prominence システム) または LCMS-8050RX (LC

部：Nexera XR システム) を用いた。

3. LC-MS/MS の測定条件

1) LC 条件

分析カラムはジーエルサイエンス(株)製 Inertsil ODS-4 (2.1 × 150 mm、3 µm) を用いた。カラム温度は 40℃、移動相は 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)、移動相流量は 0.2 mL/min、グラジエント条件は B 液 10% (0 分) → B 液 95% (20 分) → B 液 95% (30 分) → B 液 10% (30.01 分) → B 液 10% (45 分)、注入量は 2 µL とした。

2) 質量分析条件

イオン化法は ESI (ポジティブモードまたはネガティブモード)、測定モードは MRM (Multiple Reaction Monitoring) とした。脱溶媒管 (DL) 温度は 250℃、ヒートブロック温度は 400℃、ネブライザーガス流量は 3.0 L/min、ドライガス流量は 15.0 L/min とした。各化合物のモニターイオンは表 1 に示した。

4. 試料

穀類、豆類及び種実類の加工食品の代表的な試料として、甘ぐり、クラッカー、パスタ及び緑豆はるさめを、果実及び野菜の加工食品の代表的な試料として、赤ワイン、オレンジマーマレード、とうもろこし缶詰、トマト缶詰及びもも缶詰を選出した。各食品試料は、道内小売店で販売されているものを用いた。甘ぐり、クラッカー、トマト缶詰及びもも缶詰は内容物を全量、フードプロセッサーで細切均一化したものを試料とした。とうもろこし缶詰は缶内の汁を切り固形物のみ、フードプロセッサーで細切均一化したものを試料とした。パスタ及び緑豆はるさめはミキサーで荒く細切したものを、粉碎機で粒状にし、425 µm の標準網ふるいを通過したものを試料とした。

5. 対象化合物

分析対象とした農薬 62 化合物を表 1 に示した。

6. 試験溶液調製法

試験溶液調製法を図 1 に示した。

1) 抽出

抽出操作は既報^{1,2)}と同様に行った。甘ぐり、オレンジマーマレード、クラッカー、とうもろこし缶詰、パスタ及び緑豆はるさめは、試料 10.0 g を量り採った。赤ワイン、トマト缶詰及びもも缶詰は、試料 20.0 g を量り採った。パスタ及びクラッカーは水 20.0 mL、甘ぐりは水 15.6 mL、オレンジマーマレードは水 14.8 mL、とうもろこし缶詰は水 12.3 mL を加えて 15 分間放置した。加える水の量については、日本食品標準成分表 (本表)⁸⁾ の水分含量を参考にした。緑豆はるさめは抽出時に溶媒中でゲル状になり、農薬の抽出効率が低下してしまう。それを防ぐため、粉末化した試料にケイソウ土を 10 g 加え、よく混和した。

ここにアセトニトリル 50 mL (緑豆はるさめはアセトニトリル-水 (7:3) 混液 70 mL) を加え、ホモジナイズ (5,000 rpm、5 分間) した後、減圧ろ過し、100 mL の共栓付きメスシリンダーにろ液を採った。ろ紙上の残留物

表1 分析対象化合物とMS/MS 測定条件

No.	分析対象化合物	構造的な分類	RT	+/-	Q1	定量イオン		確認イオン	
						Q3	CE	Q3	CE
1	2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸	フェノキシ酢酸系	17.3	-	253	195	11	-	-
2	2,4-ジクロロフェノキシ酢酸	フェノキシ酢酸系	15.3	-	219	161	15	125	26
3	4-クロロフェノキシ酢酸	フェノキシ酢酸系	12.6	-	185	127	15	-	-
4	MCPA	フェノキシ酢酸系	15.3	-	199	141	14	105	28
5	MCPB	フェノキシ酢酸系	18.1	-	227	141	12	-	-
6	アイオキシニル	ニトリル系	15.4	-	370	127	39	243	29
7	アシフルオルフェン	ジフェニルエーテル系	18.8	-	360	316	10	195	28
8	アジムスルフロ	スルホニルウレア系	12.3	+	425	182	-17	156	-35
9	イオドスルフロ	スルホニルウレア系	14.9	+	508	167	-21	141	-26
10	イマザキン	イミダゾリンノン系	12.5	+	312	199	-27	267	-21
11	イマゾスルフロ	スルホニルウレア系	13.7	+	413	156	-23	78	-40
12	エタメトスルフロ	スルホニルウレア系	14.3	+	411	196	-17	168	-32
13	エトキシスルフロ	スルホニルウレア系	16.3	+	399	261	-16	218	-26
14	クロジナホップ酸	アリルオキシフェノキシプロピオン酸系	17.3	-	310	238	16	108	40
15	クロフェンセット	その他	13.4	+	279	261	-17	166	-29
16	クロプロップ	フェノキシプロピオン酢酸系	14.0	-	199	127	13	35	28
17	クロランスラムメチル	トリアゾロピリミジン系	16.0	+	430	398	-14	370	-22
18	クロリムロンエチル	スルホニルウレア系	16.1	+	415	186	-20	121	-40
19	クロルスルフロ	スルホニルウレア系	12.6	+	358	141	-19	167	-17
20	シクラニリド	その他	17.5	-	272	160	20	228	12
21	ジクロスラム	トリアゾロピリミジン系	16.4	+	406	161	-25	378	-16
22	シクロスルファミロン	スルホニルウレア系	18.6	+	422	218	-29	261	-18
23	ジクロプロップ	フェノキシ酢酸系	16.7	-	233	161	14	125	30
24	シノスルフロ	スルホニルウレア系	12.7	+	414	183	-17	157	-22
25	ジノセブ	ジニトロフェノール系	17.8	-	239	193	26	194	24
26	ジノテルブ	ジニトロフェノール系	18.1	-	239	176	37	177	31
27	ジベレリンA3	テトラサイクリックジテルペノイド系	11.0	-	345	143	35	239	17
28	スルフェントラゾン	N-フェニルトリアゾリノン系	16.7	-	385	307	26	199	41
29	スルホスルフロ	スルホニルウレア系	13.4	+	471	211	-16	261	-18
30	チジアズロン	ウレア系	16.8	+	221	102	-16	128	-18
31	チフェンスルフロ	スルホニルウレア系	11.6	+	388	167	-18	141	-19
32	トリアスルフロ	スルホニルウレア系	13.6	+	402	167	-21	141	-21
33	トリクロピル	ピリジルオキシカルボキシレート系	16.1	-	254	196	12	-	-
34	トリフルスルフロ	スルホニルウレア系	17.3	+	493	264	-21	238	-29
35	トリフロキシスルフロ	スルホニルウレア系	15.0	+	438	182	-20	257	-17
36	トリベニユロンメチル	スルホニルウレア系	13.8	+	396	155	-15	181	-20
37	ナプタラム	アリルカルボキシレート系	14.8	+	292	144	-10	149	-21
38	ハロキシホップ	フェノキシ酢酸系	19.4	-	360	288	15	195	29
39	ハロスルフロ	スルホニルウレア系	15.1	-	433	252	21	78	36
40	ビスピリバックナトリウム塩	ピリミジニル安息香酸系	17.8	+	431	275	-16	413	-18
41	ピラゾスルフロ	スルホニルウレア系	14.8	+	415	182	-21	139	-40
42	ピリチオバックナトリウム塩	ピリミジニル(チオ)ベンゾエート系	16.3	+	327	309	-16	-	-
43	フェンヘキサミド	ヒドロキシアニリド系	20.8	+	302	97	-23	55	-40
44	フラザスルフロ	スルホニルウレア系	13.4	+	408	182	-21	139	-40
45	プリミスルフロ	スルホニルウレア系	17.5	+	469	254	-20	199	-20
46	フルアジホップ	アリルオキシフェノキシプロピオン酸系	17.3	+	328	282	-19	254	-29
47	フルメツラム	トリアゾロピリミジン系	10.2	+	326	129	-25	262	-19
48	フルロキシピル	ピリジルオキシカルボキシレート系	11.4	-	253	195	14	233	11
49	プロスルフロ	スルホニルウレア系	16.6	+	420	141	-21	167	-22
50	プロボキシカルバゾンナトリウム塩	トリアゾリノン系	13.4	-	397	113	29	156	15
51	プロモキシニル	ニトリル系	13.4	-	276	81	29	79	30
52	フロラスラム	トリアゾロピリミジン系	12.5	+	360	129	-23	109	-55
53	ペノキスラム	トリアゾロピリミジン系	15.6	+	484	195	-30	164	-38
54	ベンスルフロ	スルホニルウレア系	17.6	+	411	149	-22	182	-21
55	ベンタゾン	ベンゾチアジジン系	11.2	-	239	132	29	197	22
56	ホメサフェン	ジフェニルエーテル系	18.7	-	437	195	39	222	36
57	ホルクロルフェニユロン	フェニルウレア系	18.9	+	248	129	-18	155	-14
58	メコプロップ	フェノキシ酢酸系	16.6	-	213	141	14	71	11
59	メソスルフロ	スルホニルウレア系	14.1	+	504	182	-25	139	-47
60	メトスルフロ	スルホニルウレア系	11.6	+	382	167	-16	199	-22
61	メトスラム	トリアゾロピリミジン系	15.6	+	418	175	-29	140	-49
62	ワルファリン	ヒドロキシクマリン系	15.6	+	309	163	-15	251	-21

RT : Retention Time

+/- : Positive mode (+) / Negative mode (-)

Q3 : Product Ion

CE : Collision Energy

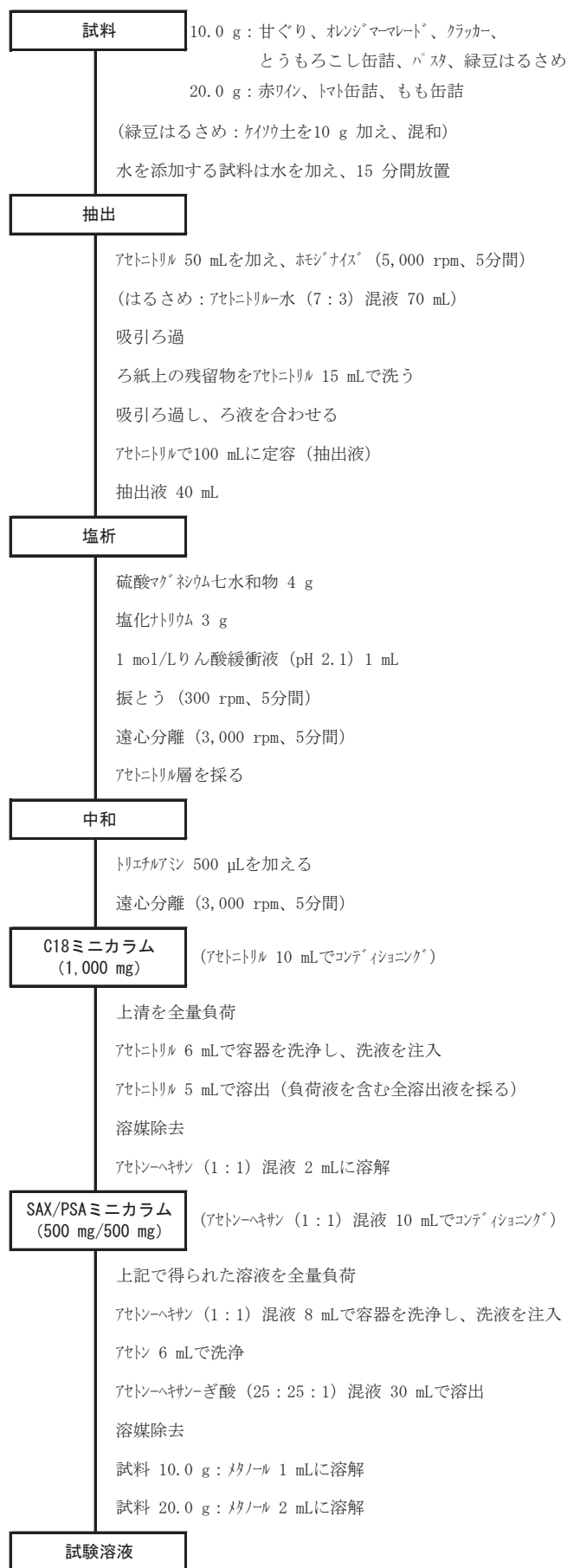


図1 試験溶液調製法

をブレンダーカップに戻し、アセトニトリル 15 mLを加え農薬を押し出すようにスパテルでよくかくはんした後、再度減圧ろ過した。上記と同一のメスシリンダーにろ液を合わせアセトニトリルで 100 mL に定容し、抽出液とした。

2) 精製

硫酸マグネシウム七水和物 4 g、塩化ナトリウム 3 g 及び 1 mol/L りん酸緩衝液 (pH 2.1) 1 mL を加えた遠沈管に抽出液 40 mL を採り、振とう (300 rpm、5 分間) した後、遠心分離 (3,000 rpm、5 分間) を行った。アセトニトリル層を遠沈管に採り、トリエチルアミン 500 μ L を加えて中和し、さらに遠心分離 (3,000 rpm、5 分間) を行った。得られた上澄液を C18 ミニカラムに負荷した後、遠沈管をアセトニトリル 6 mL で洗浄した洗液を負荷し、次いでアセトニトリル 5 mL を注入し、負荷液を含む全溶出液を採った。溶出液を減圧下濃縮し、窒素気流下で溶媒を除去した後、残留物にアセトン-ヘキサン (1:1) 混液 2 mL を加えて溶解した。これを SAX/PSA ミニカラムに負荷した後、アセトン-ヘキサン (1:1) 混液 8 mL で容器を洗浄した洗液を負荷し、次いでアセトン 6 mL を注入して、各流出液は捨てた。アセトン-ヘキサン-ギ酸 (25:25:1) 混液 30 mL を注入し、溶出液を採った後、減圧下濃縮し、窒素気流下で溶媒を除去した。得られた残留物にメタノールを加えて溶解し、甘ぐり、オレンジマーマレード、とうもろこし缶詰、クラッカー、パスタ及び緑豆はるさめは 1 mL、赤ワイン、トマト缶詰及びもも缶詰は 2 mL に定容したものを試験溶液とした。

7. 定量

試験溶液は、メタノールと等量混合したものを LC-MS/MS に 2 μ L 注入した。

メタノールと各検量線用標準溶液を等量混合し、0.01、0.015、0.02、0.025 及び 0.03 mg/L の溶媒標準溶液を調製した。これらを LC-MS/MS に 2 μ L 注入し、得られたクロマトグラムのピーク面積により検量線を作成した (以下、溶媒検量線とする)。また、無添加試料を「6. 試験溶液調製法」に従って操作し、得られたブランク試験溶液と各検量線用標準溶液を等量混合し、上記と同濃度のマトリックス添加標準溶液を調製した。これらを LC-MS/MS に 2 μ L 注入し、得られたクロマトグラムのピーク面積により検量線を作成した (以下、マトリックス添加検量線とする)。溶媒検量線またはマトリックス添加検量線を用いて、絶対検量線法により試料中 (2 μ L) の各化合物量を求めた。

8. 添加回収試験 (妥当性評価)

残留基準値が設定されていない加工食品については、原則一律基準による規制の対象となることから、試料に対して 62 化合物を一律基準濃度 (0.01 mg/kg) で添加し、30 分間放置した後、「6. 試験溶液調製法」に従って試験溶液を調製した。なお、定量はマトリックス添加検量線で行った。添加回収試験は、厚生労働省通知の「食品中に残留する農薬に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」⁹⁾ (以下、ガイドラインとする) に従い、実施者 1 名で 2 併行 5 日間行

い、選択性、真度、精度（併行精度及び室内精度）及び定量限界について評価した。

結果及び考察

1. 試験溶液調製法

今回の分析法では、抽出液の調製法は既報^{1, 2)}の方法をそのまま採用し、塩析及びミニカラム精製については酸性農薬に適した方法を新たに検討した。

1) 塩析条件の検討

既報¹⁾では塩析操作の際、塩析剤として硫酸マグネシウム七水和物及び塩化ナトリウムのほか、アセトニトリル抽出液の液性を中性から弱塩基性にして、測定対象農薬を効率的にアセトニトリル層に移行させるために炭酸水素ナトリウムを加えている。しかし、本研究での測定対象農薬は酸性農薬であることから、炭酸水素ナトリウムの添加によりアセトニトリル層に移行しにくいと考えられた。そこで、炭酸水素ナトリウムに代わる pH を調整するための添加剤について検討を行った。添加用標準溶液 400 μ L（各成分 0.08 μ g）を遠沈管に採り、窒素気流下で溶媒を除去した後、アセトニトリル-水（4：1）混液 40 mL を加えて溶解し、硫酸マグネシウム七水和物 4 g、塩化ナトリウム 3 g を加えた。そして、添加剤として 1 mol/L りん酸緩衝液（pH 2.1）1 mL、1 mol/L ぎ酸 1 mL、1 mol/L 塩酸 1 mL または炭酸水素ナトリウム 0.5 g を加え、5 分間振とうした後、遠心分離した。また、いずれの添加剤も加えずに振とうし、遠心分離したものを対照群とした。アセトニトリル層を C18 ミニカラムに負荷した後、アセトニトリル 5 mL を注入し、負荷液を含む全溶出液を採った。この溶媒を除去した後、残留物にメタノール 2 mL を加えて溶解し、各化合物の回収率を求めた。表 2 に結果を示したとおり、りん酸緩衝液を加えた場合に、トリベニュロンメチルを除く 62 化合物中 61 化合物において 70% 以上の回収率が得られ、ほかの条件と比べて良好な結果が得られた。以上の結果から、今回の分析法では添加剤として 1 mol/L りん酸緩衝液（pH 2.1）1 mL を加えることとした。

2) 固相抽出用ミニカラムによる精製の検討

既報^{1, 2)}では塩析後の精製において C18 ミニカラムと GCB/NH₂ ミニカラムを用いている。C18 ミニカラムについては、「1) 塩析条件の検討」で示したように、りん酸緩衝液を加えた塩析後のアセトニトリル層を負荷した後、アセトニトリル 5 mL を注入した場合に、ほとんどの化合物において良好な回収率が得られた。そこで、今回の分析法においても C18 ミニカラムを精製に用いることとした。

一方、GCB/NH₂ ミニカラムでは、添加用標準溶液 400 μ L（各成分 0.08 μ g）の溶媒を窒素気流下で除去した後、アセトニトリル-トルエン（3：1）混液 3 mL に溶解して負荷し、同溶媒 20 mL で溶出を試みたが、ほとんどの化合物を回収できなかった。そこで、GCB/NH₂ ミニカラムに代わる固相抽出用ミニカラムとして、陰イオン交換作用を示す PSA ミニカラムまたは SAX/PSA ミニカラムを用いた

表 2 各添加剤による農薬の回収率の比較

添加剤	農薬数*	回収率（%）		
		最小値	最大値	平均値
りん酸緩衝液	61	17.0	91.0	83.0
ぎ酸	40	13.3	84.9	72.2
塩酸	51	12.4	83.2	74.7
炭酸水素ナトリウム	51	3.8	85.4	75.5
添加剤なし	52	8.1	80.5	72.4

*：回収率 70% 以上 120% 以下の農薬数

(n=1)

精製について検討した。齋藤らの方法を参考として⁷⁾、アセトン-ヘキサン（1：1）混液 8 mL で負荷した後、アセトン 6 mL で洗浄し、アセトン-ヘキサン-ぎ酸（25：25：1）混液 30 mL を用いて溶出することとし、本条件を両ミニカラムに適用したところ、トマト缶詰抽出液を用いた場合に SAX/PSA ミニカラムでは精製後の試験溶液中の着色がより少なかった。また、SAX/PSA ミニカラムについて、添加用標準溶液 400 μ L（各成分 0.08 μ g）を用いて、上記の負荷、洗浄及び溶出条件に従って操作し、62 化合物の回収試験を行い、各工程における化合物の溶出挙動を確認した。アセトン-ヘキサン-ぎ酸（25：25：1）混液 30 mL 注入時に、62 化合物中 60 化合物については負荷量のほぼすべてが回収された。クロフェンセット及びナプタラムは、負荷量の 50% 程度しか回収されなかった。この 2 つの化合物は、負荷及び洗浄の工程でも回収されなかった。このことから、アセトン-ヘキサン-ぎ酸（25：25：1）混液での溶出後もカラムに保持されたままであると考えられる。以上の結果より、色素の除去効果が高く、各化合物の溶出挙動も概ね問題なかったことから、SAX/PSA ミニカラムを精製に用いることとした。

3) 中和操作の検討

前項までの検討結果より、図 2 に示したように抽出液を塩析後に C18 ミニカラム、次いで SAX/PSA ミニカラムで精製することとし、本法の食品試料への適用性について検討した。添加用標準溶液 400 μ L（各成分 0.08 μ g）の溶媒を除去し、トマト缶詰のブランク抽出液 40 mL を加えて溶解した後、図 2 の試験溶液調製法に従って操作し、得られた試験溶液中の 62 化合物についてマトリックス添加検量線を用いて回収率を求めた。その結果、70% 以上の回収率が得られたのは 62 化合物中 54 化合物であり、8 化合物において回収率が 70% 未満となった。この原因として、塩析剤として加えるりん酸緩衝液の影響により SAX/PSA ミニカラムへの負荷液中の酸性夾雑成分が増え、それらが分析対象化合物の保持に悪影響を及ぼす可能性を考えた。そこで、その改善を目的として種々の検討を行った。その結果、塩析後のアセトニトリル層にトリエチルアミン 500 μ L を添加して中和を行い、発生する不溶物を遠心分離により除去する操作を追加し、添加回収試験を行ったところ 62 化合物中 60 化合物において 70% 以上の良好な回収率が得られた。回収率が改善した理由としては、酸性夾

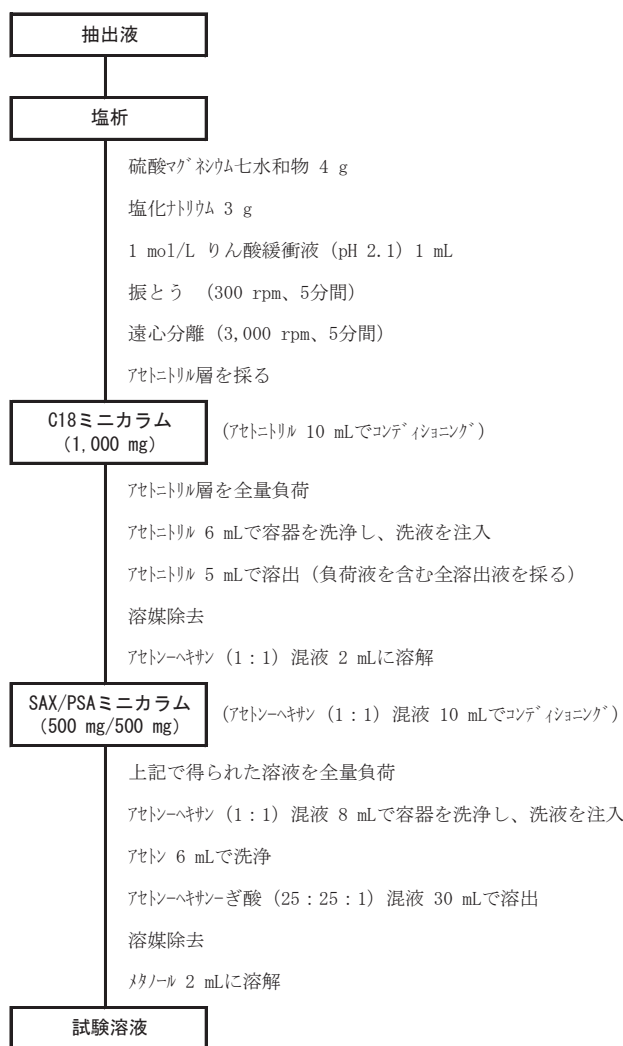


図2 試験溶液調製法（中和操作なし）

雑成分がトリエチルアミン塩として析出し、除去されたことでSAX/PSA ミニカラムによる精製効果の改善に寄与したことが考えられる。以上の結果より、今回の分析法では、抽出液を塩析後、アセトニトリル層にトリエチルアミンを加えて中和した後、C18 ミニカラム、次いでSAX/PSA ミニカラムで精製することとした（図1）。

2. 試料マトリックスの測定への影響

「7. 定量」に示した方法により0.02 mg/Lのマトリックス添加標準溶液及び溶媒標準溶液を調製し、マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積比を求め、9食品における試料マトリックスの測定への影響を検討した。その結果、各分析対象化合物のピーク面積比は赤ワインでは0.53～1.29、甘ぐりでは0.44～1.09、オレンジマーマレードでは0.49～1.17、クラッカーでは0.28～1.12、とうもろこし缶詰では0.44～1.09、トマト缶詰では0.35～1.36、パスタでは0.37～1.57、もも缶詰では0.20～1.40、緑豆はるさめでは0.58～0.96であった。また、各試料を用いて62化合物の添加回収試験を行い、溶媒検量線またはマトリックス添加検量線により回収率を求めた。その結果、表3に示したとおり、回収率の目標値70～120%の範囲内

表3 ガイドライン^{*1}の目標値を満たす農薬数の比較

試料名	溶媒検量線 ^{*2}	マトリックス ^{*3} 添加検量線
赤ワイン	46	58
甘ぐり	33	58
オレンジマーマレード	42	59
クラッカー	22	60
とうもろこし缶詰	29	60
トマト缶詰	44	59
パスタ	47	59
もも缶詰	54	60
緑豆はるさめ	53	59

^{*1}: 妥当性評価ガイドライン

^{*2}: 溶媒で調製した標準溶液を測定して作成

^{*3}: ブランク試験溶液で調製した標準溶液を測定して作成

を満たした化合物数はマトリックス添加検量線を用いた場合と比べて溶媒検量線を用いた場合では少なかった。特に、甘ぐり、クラッカー及びとうもろこし缶詰のような他の食品試料よりも比較的、脂質及びタンパク質の含有量が多い食品¹⁰は、目標値を満たした化合物数に大きな差が認められた。以上の結果から、各分析対象化合物に対する試料マトリックスの測定への影響は大きいと考え、マトリックス添加検量線で定量を行うこととした。

3. 妥当性評価

マトリックス添加検量線を用いて「8. 添加回収試験（妥当性評価）」に従い、妥当性評価を行った結果を表4に示した。なお、ガイドラインで規定された各評価パラメータの目標要件については、本分析法では定量限界を一律基準濃度（0.01 mg/kg）としていることから、選択性は定量を妨害するピークが0.01 mg/kg相当ピークの1/3未満、真度は70～120%の範囲内、併行精度は25%未満、室内精度は30%未満である。また、基準値が定量限界と一致していることから、添加回収試験において、上記で示した真度、併行精度及び室内精度の目標要件を満たしていること、また、定量限界濃度に対応する濃度から得られるピークがS/N ≥ 10であることを確認した。選択性については、甘ぐりのジベレリンA3が要件を満たさなかった。真度については、クロフェンセット、トリベニユロンメチル及びナプタラムがほとんどの試料で70%未満であったほか、赤ワインのビスピリバックナトリウム塩も要件を満たさなかった。併行精度については甘ぐりのジベレリンA3を除く全食品の全化合物において要件を満たした。室内精度については、オレンジマーマレードのクロフェンセット、甘ぐりのクロフェンセット及びトリベニユロンメチルが要件を満たさなかった。定量限界については真度、併行精度及び室内精度の目標値を満たしていない化合物は上記のとおりであり、すべての食品の添加試料において分析対象化合物のピークはS/N ≥ 10であることを確認できた。

以上よりガイドラインの目標要件を満たした化合物数は、赤ワインで58化合物、甘ぐりで58化合物、オレンジ

表4 妥当性評価結果

No.	分析対象化合物	赤ワイン			甘ぐり			オレンジマーマレード		
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
1	2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸	90.4	8.9	8.0	77.2	11.3	12.0	84.6	8.6	8.7
2	2,4-ジクロロフェノキシ酢酸	88.9	8.4	8.2	75.9	8.0	16.5	83.3	10.2	12.0
3	4-クロロフェノキシ酢酸	86.2	7.9	18.1	76.5	10.4	23.5	80.9	12.8	16.8
4	MCPA	91.1	7.6	8.9	77.1	10.7	12.1	84.0	10.1	12.2
5	MCPB	98.7	4.6	5.7	76.9	10.3	14.6	83.3	13.1	12.1
6	アイオキシニル	95.7	5.1	5.6	81.8	6.1	8.1	87.4	9.4	9.0
7	アシフルオルフェン	95.1	9.5	10.5	83.7	9.4	10.5	91.3	12.1	10.8
8	アジメスルフロン	82.6	7.0	8.8	75.0	9.1	11.1	85.5	7.7	9.4
9	イオドスルフロンメチル	82.6	7.7	9.6	83.7	6.9	6.9	86.7	10.2	11.5
10	イマザキン	79.4	8.3	7.9	76.9	16.8	13.4	79.8	7.1	8.2
11	イマゾスルフロン	83.4	6.1	14.1	81.1	13.1	13.5	84.7	9.2	10.0
12	エタメトスルフロンメチル	87.3	7.3	8.1	83.5	7.6	7.4	84.9	8.6	10.2
13	エトキシスルフロン	85.9	6.4	8.1	88.8	7.2	17.9	83.7	7.3	9.4
14	クロジナホップ酸	92.2	6.9	6.1	81.2	11.9	9.5	87.4	8.8	10.3
15	クロフェンセット	69.5	7.8	11.8	72.3	14.2	30.4	81.5	9.7	42.0
16	クロプロップ	94.2	7.1	7.5	77.3	10.9	10.2	85.1	9.1	9.8
17	クロランスラムメチル	90.0	5.7	7.9	83.8	10.6	8.2	85.9	9.9	12.7
18	クロリムロンエチル	88.1	5.9	8.7	89.6	5.7	20.6	85.2	9.8	10.8
19	クロルスルフロン	81.8	7.9	12.8	80.9	5.7	5.5	85.7	8.0	9.8
20	シクラニリド	93.5	5.4	8.5	81.6	8.5	13.1	88.8	9.9	13.0
21	ジクロスラム	90.7	5.6	12.6	83.7	5.9	7.4	84.3	6.6	10.3
22	シクロスルファミロン	90.1	5.3	6.8	82.3	5.2	5.5	86.2	8.1	8.3
23	ジクロプロップ	92.7	7.9	8.6	80.3	7.1	7.4	86.5	12.8	11.1
24	シノスルフロン	88.1	7.0	7.7	83.8	6.2	5.7	89.4	9.0	13.4
25	ジノセブ	103.3	4.4	8.6	88.7	5.8	5.9	87.4	7.2	7.6
26	ジノテルブ	105.9	4.6	10.3	90.1	6.8	10.9	89.7	10.5	11.5
27	ジベレリン A3	73.0	13.5	12.9	—	—	—	75.9	12.9	16.6
28	スルフェントラゾン	96.3	5.3	9.9	87.7	9.9	19.2	91.0	5.7	9.1
29	スルホスルフロン	75.7	10.7	11.4	83.3	5.7	5.0	86.2	9.7	14.7
30	チジアズロン	89.4	4.1	17.5	82.0	3.5	7.9	82.2	6.8	7.5
31	チフェンスルフロンメチル	77.0	10.3	11.8	78.1	6.3	11.3	79.5	5.2	12.0
32	トリアスルフロン	89.6	5.6	8.6	85.0	7.8	10.2	88.8	9.2	9.0
33	トリクロピル	95.0	8.2	10.2	78.0	12.7	16.1	82.9	11.1	13.8
34	トリフルスルフロンメチル	85.1	6.6	8.8	72.3	7.9	10.7	79.9	8.6	9.6
35	トリフロキシスルフロン	86.7	6.9	7.2	81.4	7.6	6.7	85.8	9.4	9.5
36	トリベニューロンメチル	62.5	5.9	15.0	52.4	10.3	34.7	63.9	9.7	24.2
37	ナブタラム	50.2	10.6	22.3	62.2	5.0	10.7	68.5	12.0	14.9
38	ハロキシホップ	94.4	7.8	6.5	84.4	7.2	11.5	88.8	11.2	10.5
39	ハロスルフロンメチル	90.6	6.6	10.8	79.6	7.5	9.3	85.7	9.1	10.1
40	ビスピリバックナトリウム塩	67.1	11.1	14.4	88.5	10.0	27.2	80.7	11.5	11.4
41	ピラゾスルフロンエチル	86.1	6.5	8.8	83.4	6.4	6.3	88.4	9.0	8.8
42	ピリチオバックナトリウム塩	89.4	6.0	13.9	92.2	6.7	21.6	84.4	5.4	7.9
43	フェンヘキサミド	91.8	3.9	12.6	82.9	7.9	7.4	89.1	9.2	8.7
44	フラザスルフロン	79.6	7.2	8.0	79.4	7.3	7.3	83.7	9.0	8.6
45	プリミスルフロンメチル	85.0	5.6	11.2	86.4	5.7	16.3	82.4	8.5	11.3
46	フルアジホップ	92.6	4.4	5.9	82.9	6.4	9.0	87.2	7.2	6.7
47	フルメツラム	83.5	5.4	14.8	83.5	8.8	7.0	83.9	7.8	10.0
48	フルロキシピル	81.1	13.2	10.7	79.5	9.5	12.6	83.2	12.6	11.9
49	プロスルフロン	87.3	5.5	10.7	79.3	4.5	6.0	87.4	11.4	18.3
50	プロボキシカルバゾンナトリウム塩	72.7	14.0	12.0	82.0	8.6	15.4	82.1	6.2	6.9
51	プロモキシニル	98.7	4.9	8.4	87.3	9.8	8.8	88.8	10.6	11.4
52	フロラスラム	90.3	3.9	16.3	84.1	8.4	9.3	87.4	7.8	7.6
53	ペノキスラム	91.1	6.3	7.9	85.7	5.8	6.1	90.8	9.2	11.2
54	ベンスルフロンメチル	91.2	5.2	6.9	83.0	6.4	6.0	86.2	9.5	12.5
55	ベンタゾン	94.4	5.9	7.3	83.0	12.2	9.3	87.1	11.2	9.9
56	ホメサフェン	94.8	7.6	8.9	86.7	7.8	7.7	91.2	12.1	11.6
57	ホルクロルフェニユロン	91.7	4.0	10.2	84.2	3.8	8.7	86.0	6.0	8.1
58	メコプロップ	95.2	7.4	8.3	80.0	6.1	9.4	84.2	8.9	8.3
59	メソスルフロンメチル	84.5	8.2	8.3	83.8	7.3	7.1	91.0	11.2	27.8
60	メトスルフロンメチル	82.9	8.8	9.1	79.3	6.8	11.9	77.9	4.9	12.6
61	メトスラム	84.5	7.2	9.3	84.0	6.4	9.4	84.6	10.6	12.6
62	ワルファリン	88.8	4.1	9.1	81.3	16.2	19.9	89.5	8.3	8.5

— : 選択性を満たさず測定不能

■ : 妥当性評価ガイドラインの目標要件を満たさなかったもの

表4 妥当性評価結果(続き)

No.	分析対象化合物	クラッカー			とうもろこし缶詰			トマト缶詰		
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
1	2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸	82.9	3.3	9.1	78.7	6.6	8.2	90.4	2.4	8.5
2	2,4-ジクロロフェノキシ酢酸	80.9	6.9	10.7	76.1	7.2	10.9	94.2	5.3	8.9
3	4-クロロフェノキシ酢酸	71.9	4.9	10.9	74.2	6.9	10.5	83.7	4.2	5.1
4	MCPA	80.7	5.9	15.0	78.3	6.4	9.0	96.9	9.1	14.1
5	MCPB	80.8	9.2	9.0	80.7	8.6	7.7	86.7	10.0	8.5
6	アイオキシニル	92.2	4.5	8.6	86.4	7.1	8.4	98.9	2.3	6.5
7	アシフルオルフェン	92.8	7.7	13.3	87.7	7.5	10.9	96.4	1.0	7.0
8	アジメスルフロ	92.4	3.5	9.4	89.9	3.9	13.1	97.0	1.6	6.5
9	イオドスルフロメチル	95.9	3.5	9.8	89.7	9.3	12.8	100.9	3.1	7.1
10	イマザキン	77.9	3.5	9.7	82.0	8.4	14.1	93.6	1.8	6.4
11	イマゾスルフロ	93.7	2.7	9.5	85.9	6.8	13.6	95.4	6.9	10.7
12	エタメトスルフロメチル	96.5	3.6	10.0	89.2	4.9	13.3	98.3	2.1	6.1
13	エトキシスルフロ	92.8	6.0	11.9	86.7	7.9	11.5	96.1	2.5	8.1
14	クロジナホップ酸	86.9	5.7	11.4	85.4	6.7	11.4	96.3	4.5	9.1
15	クロフェンセット	56.1	4.5	13.7	62.1	7.9	13.8	67.6	8.1	14.4
16	クロプロップ	80.4	4.1	12.1	80.7	9.4	9.8	91.5	4.0	6.6
17	クロランスラムメチル	98.8	4.9	11.4	93.1	3.8	12.7	100.3	3.7	8.4
18	クロリムロンエチル	93.9	5.7	11.3	90.5	7.7	11.3	98.3	3.4	9.4
19	クロルスルフロ	92.9	3.9	9.4	88.8	5.3	13.5	95.6	1.5	4.0
20	シクラニリド	87.5	3.2	8.1	82.6	5.9	9.9	93.5	2.7	8.6
21	ジクロスラム	99.5	7.8	12.4	93.0	4.0	15.8	100.5	2.3	8.9
22	シクロスルファミロン	93.7	2.7	10.8	88.5	5.1	10.4	94.6	2.7	7.5
23	ジクロプロップ	86.1	5.5	12.0	80.6	7.2	9.8	93.0	7.5	9.4
24	シノスルフロ	95.9	3.7	10.2	90.1	4.6	13.2	97.7	2.3	5.8
25	ジノセブ	99.7	4.3	9.0	91.0	9.9	10.5	103.9	3.4	7.4
26	ジノテルブ	102.9	3.6	10.9	92.9	8.1	7.7	106.8	5.2	9.3
27	ジベレリン A3	76.5	4.0	16.1	83.6	10.1	14.2	95.5	4.1	11.7
28	スルフェントラゾン	98.3	8.6	9.7	89.1	8.2	11.6	98.8	8.4	10.8
29	スルホスルフロ	95.2	3.1	10.6	89.8	4.9	12.2	95.4	2.0	3.9
30	チジアズロン	73.3	7.2	10.5	86.6	3.6	12.9	93.2	3.0	9.6
31	チフェンスルフロメチル	92.9	3.3	9.4	87.7	6.1	15.8	94.4	3.0	4.4
32	トリアスルフロ	96.8	3.5	10.0	89.2	9.1	13.3	98.3	4.5	5.3
33	トリクロピル	81.7	7.4	15.1	80.0	10.2	9.4	94.3	4.5	10.3
34	トリフルスルフロメチル	89.5	5.0	11.0	85.6	4.1	12.3	92.1	2.8	6.9
35	トリフロキシスルフロ	93.6	3.7	9.8	89.5	6.7	11.5	98.8	3.4	7.0
36	トリベニユロンメチル	74.2	5.4	11.4	75.2	6.4	10.3	67.7	3.1	15.6
37	ナブタラム	59.6	4.1	12.8	65.4	4.4	13.5	67.0	5.5	5.7
38	ハロキシホップ	88.8	4.3	11.6	85.3	7.2	9.6	92.3	4.5	7.6
39	ハロスルフロメチル	96.1	10.0	13.6	89.1	5.0	14.0	101.3	5.4	10.1
40	ビスピリバックナトリウム塩	85.7	4.8	12.1	83.1	4.5	9.8	88.3	6.7	7.1
41	ピラゾスルフロエチル	95.5	3.5	9.5	87.6	6.8	13.3	99.6	2.5	6.1
42	ピリチオバックナトリウム塩	95.3	6.9	12.3	91.5	6.0	18.4	101.8	3.1	8.5
43	フェンヘキサミド	91.7	22.8	22.9	89.8	5.2	11.5	97.3	17.3	20.9
44	フラザスルフロ	88.1	3.5	9.6	85.7	6.8	11.0	89.3	2.1	2.8
45	プリミスルフロメチル	92.5	3.9	11.0	87.6	4.2	12.7	92.4	2.8	6.7
46	フルアジホップ	89.2	4.0	10.4	86.0	7.1	13.7	94.8	1.7	7.8
47	フルメツラム	92.9	4.3	8.8	87.9	5.1	14.0	107.8	13.1	14.7
48	フルロキシピル	81.1	7.5	10.9	82.5	7.0	10.9	91.4	2.0	9.1
49	プロスルフロ	96.5	5.4	11.8	89.1	4.7	12.2	95.9	4.4	6.3
50	プロボキシカルバゾンナトリウム塩	92.2	2.8	9.3	84.2	9.1	9.6	93.4	3.9	4.8
51	プロモキシニル	94.7	6.0	10.9	87.1	10.7	11.7	102.8	3.2	6.7
52	フロラスラム	97.1	3.5	8.9	90.9	5.8	13.8	95.8	2.0	3.8
53	ペノキスラム	100.0	4.9	12.5	90.6	9.1	12.6	103.3	4.6	7.6
54	ベンスルフロメチル	95.3	5.1	10.8	89.1	5.3	11.0	97.0	2.7	5.0
55	ペンタゾン	91.7	4.1	9.3	87.6	6.3	8.5	98.5	2.6	8.2
56	ホメサフェン	95.5	2.3	10.7	92.5	7.8	12.1	98.2	3.3	8.2
57	ホルクロルフェニユロン	94.2	3.5	13.7	90.4	4.0	13.9	95.7	2.9	6.9
58	メコプロップ	85.1	5.3	10.2	80.9	7.9	7.6	89.3	3.5	8.4
59	メソスルフロメチル	97.2	3.9	10.1	90.6	8.8	13.7	97.6	1.8	5.3
60	メトスルフロメチル	93.7	2.8	10.0	90.5	6.7	14.8	95.9	2.3	4.7
61	メトスラム	97.7	5.3	11.7	89.1	7.3	12.6	101.8	5.2	10.4
62	ワルファリン	94.5	4.4	9.9	86.8	6.4	10.4	97.6	4.3	9.0

— : 選択性を満たさず測定不能

■ : 妥当性評価ガイドラインの目標要件を満たさなかったもの

表4 妥当性評価結果 (続き)

No.	分析対象化合物	パスタ			もも缶詰			緑豆はるさめ		
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
1	2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸	80.5	9.2	8.3	88.7	6.6	9.9	84.3	7.9	12.0
2	2,4-ジクロロフェノキシ酢酸	80.9	11.4	8.9	92.6	8.4	11.6	79.5	10.9	14.0
3	4-クロロフェノキシ酢酸	75.1	13.7	9.8	88.8	6.7	9.2	70.5	7.1	11.0
4	MCPA	81.3	11.0	7.9	89.1	13.2	14.3	83.8	11.4	22.7
5	MCPB	85.2	9.0	9.0	71.7	20.2	21.7	78.9	10.7	17.2
6	アイオキシニル	91.5	8.8	7.2	96.3	5.3	8.5	94.9	10.6	13.1
7	アシフルオルフェン	90.8	9.0	8.2	94.5	5.7	6.3	92.1	7.8	16.5
8	アジメスルフロン	91.8	6.5	7.3	88.8	8.3	15.2	96.2	7.4	12.4
9	イオドスルフロンメチル	92.0	7.0	6.9	93.4	2.3	6.5	98.9	6.7	11.7
10	イマザキン	79.8	6.8	7.0	83.7	17.8	23.3	76.3	8.5	15.8
11	イマゾスルフロン	90.3	6.0	7.2	93.6	9.3	12.0	87.0	6.9	23.5
12	エタメトスルフロンメチル	94.2	6.8	6.5	94.8	5.3	7.6	98.3	7.5	12.5
13	エトキシスルフロン	89.2	7.3	7.3	92.1	8.5	8.4	93.6	8.3	10.2
14	クロジナホップ酸	83.9	7.0	7.8	91.6	12.2	11.3	88.9	8.1	13.7
15	クロフェンセット	54.4	9.9	13.5	79.5	22.7	27.9	53.2	11.3	19.0
16	クロプロップ	82.2	9.1	7.5	84.8	8.1	11.0	79.9	9.1	12.7
17	クロランスラムメチル	94.3	6.8	6.4	96.4	7.4	10.0	100.3	6.1	12.7
18	クロリムロンエチル	90.0	6.8	6.4	92.4	5.1	5.3	95.0	6.5	10.9
19	クロルスルフロン	89.6	5.8	6.1	93.4	6.2	8.9	94.1	6.6	10.1
20	シクラニリド	85.0	7.4	6.5	93.0	6.9	11.8	91.0	7.6	13.9
21	ジクロスラム	94.0	5.8	7.1	96.5	7.1	6.7	103.7	7.6	11.0
22	シクロスルファミロン	92.6	6.9	7.0	92.4	4.5	4.6	95.5	7.2	11.7
23	ジクロプロップ	84.6	9.1	7.2	93.5	5.8	9.3	87.0	11.1	12.8
24	シノスルフロン	94.0	6.1	6.4	100.1	7.1	10.6	99.5	8.7	10.9
25	ジノセブ	102.9	7.7	6.4	96.6	5.4	6.6	97.6	7.4	9.1
26	ジノテルブ	104.3	8.0	9.2	96.1	6.0	7.4	98.6	5.9	10.5
27	ジベレリン A3	78.3	9.7	9.1	85.3	16.4	17.0	76.0	11.9	19.0
28	スルフェントラゾン	94.2	10.2	8.0	93.3	21.7	22.5	95.8	9.4	17.4
29	スルホスルフロン	92.9	6.9	7.1	97.3	6.6	10.1	99.3	7.9	12.7
30	チジアズロン	89.5	4.5	5.6	86.1	5.3	11.6	93.4	7.5	10.4
31	チフェンスルフロンメチル	91.0	5.9	7.1	98.8	6.4	12.6	96.8	9.9	9.7
32	トリアスルフロン	94.3	7.0	6.6	95.7	6.1	9.2	99.7	7.5	12.4
33	トリクロピル	84.0	9.4	7.7	92.4	5.7	12.2	82.8	7.2	17.7
34	トリフルスルフロンメチル	84.9	6.2	7.5	78.2	5.9	14.7	86.3	6.0	10.1
35	トリフロキシスルフロン	91.3	7.1	7.3	90.5	2.3	5.3	96.9	7.3	12.5
36	トリベニユロンメチル	65.1	8.2	13.8	59.2	4.6	18.8	63.1	6.4	26.4
37	ナブタラム	55.6	10.9	15.9	67.5	8.7	10.6	64.0	7.7	13.8
38	ハロキシホップ	89.4	9.2	7.9	89.1	4.3	6.5	91.3	10.0	16.3
39	ハロスルフロンメチル	92.5	8.5	6.8	91.0	5.1	8.3	95.8	10.3	13.5
40	ビスピリバックナトリウム塩	78.4	10.1	11.9	81.7	6.6	18.0	96.1	9.5	12.0
41	ピラゾスルフロンエチル	93.4	6.8	6.8	94.5	2.3	5.5	98.7	6.7	10.6
42	ピリチオバックナトリウム塩	87.3	4.8	7.7	98.5	5.8	11.2	94.0	8.1	12.6
43	フェンヘキサミド	88.8	4.2	5.5	92.1	7.2	11.2	97.8	9.2	11.5
44	フラザスルフロン	86.4	7.5	7.8	88.0	6.7	8.9	91.3	6.6	10.4
45	プリミスルフロンメチル	87.8	7.1	7.4	88.6	15.1	13.2	89.6	7.2	8.8
46	フルアジホップ	87.3	6.2	6.6	93.5	9.4	8.5	91.4	7.9	11.6
47	フルメツラム	92.4	5.5	9.0	98.3	10.0	16.1	98.3	5.8	12.3
48	フルロキシピル	81.9	9.1	7.6	95.2	9.7	11.0	82.5	9.0	15.6
49	プロスルフロン	90.9	5.9	6.2	90.4	5.3	6.7	93.9	7.6	12.1
50	プロボキシカルバゾンナトリウム塩	91.4	11.2	9.4	85.8	6.9	9.6	95.6	9.8	17.3
51	プロモキシニル	97.4	8.6	6.3	98.8	9.7	11.8	95.2	10.6	15.5
52	フロラスラム	93.8	5.9	7.0	100.9	9.7	12.7	102.4	6.4	10.1
53	ペノキスラム	95.3	7.4	7.1	94.9	5.3	6.0	102.8	6.4	14.9
54	ベンスルフロンメチル	92.3	6.1	6.0	93.0	3.6	5.8	96.9	7.9	12.3
55	ベンタゾン	92.9	9.6	7.7	98.6	10.3	15.3	96.8	10.5	14.0
56	ホメサフェン	95.4	7.5	6.4	96.6	5.6	7.6	100.0	7.8	15.4
57	ホルクロルフェニユロン	94.6	6.3	7.6	92.8	7.6	10.0	99.9	7.7	11.0
58	メコプロップ	85.2	8.1	6.8	93.1	10.2	14.1	84.6	9.7	13.0
59	メソスルフロンメチル	93.4	7.1	7.2	92.3	4.7	6.4	100.1	7.7	13.5
60	メトスルフロンメチル	92.1	5.5	7.0	100.0	7.1	12.8	97.7	9.4	10.7
61	メトスラム	94.1	6.1	7.2	96.3	6.0	7.0	100.2	7.7	12.5
62	ワルファリン	92.1	6.4	6.2	98.6	8.1	10.8	98.1	8.3	13.4

— : 選択性を満たさず測定不能

■ : 妥当性評価ガイドラインの目標要件を満たさなかったもの

マーマレードで 59 化合物、クラッカーで 58 化合物、とうもろこし缶詰で 60 化合物、トマト缶詰で 59 化合物、パスタで 59 化合物、もも缶詰で 60 化合物及び緑豆はるさめで 59 化合物であった。すべての食品において 58~60 化合物が目標要件を満たすという良好な結果が得られた。

結 語

農産加工食品中の酸性農薬一斉分析法について検討を行った。アセトニトリルで酸性農薬を抽出し、その抽出液に硫酸マグネシウム七水和物、塩化ナトリウム及びりん酸緩衝液を加えて塩析する。アセトニトリル層を採り、トリエチルアミンで中和した後、C18 ミニカラム及び SAX/PSA ミニカラムで精製し、LC-MS/MS で定量する方法を開発した。開発した分析法の妥当性評価を一律基準濃度 (0.01 mg/kg) で 9 種の農産加工食品を用いて実施した。その結果、妥当性評価ガイドラインの目標値で規定された評価パラメータ (選択性、真度、精度 (併行精度及び室内精度) 及び定量限界) の目標要件を満たした農薬はすべての食品において 62 化合物中 58 化合物以上と良好な結果が得られた。この結果より、本分析法は農産加工食品中の酸性農薬一斉分析法として有用と考えられ、今後の残留農薬検査体制の強化に繋がることが期待される。今後は、他の農産加工食品についても妥当性評価を行い検査対象食品の拡充を図る予定である。一方、検査の効率化の観点から、すべての食品試料において、溶媒検量線で定量可能であることが望ましい。そのため、マトリックスの影響が特に大きかったクラッカー等では追加の精製を検討することが今後の課題である。

文 献

- 1) 青柳光敏, 柿本洋一郎, 岡部 亮, 千葉真弘, 橋本 諭, 西村一彦, 小島弘幸: LC-MS/MS を用いた農産加工食品中の残留農薬一斉試験法の検討と妥当性評価. 道衛研所報, **66**, 29-45 (2016)
- 2) 柿本洋一郎, 岡部 亮, 久保田晶子, 千葉真弘, 青柳光敏: GC-MS/MS を用いた農産加工食品等の残留農薬分析法の妥当性評価について. 道衛研所報, **67**, 41-56 (2017)
- 3) 厚生労働省ホームページ: 輸入時における輸入食品違反事例, https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/yunyu_kanshi/ihan/index.html (確認: 2025 年 4 月 11 日)
- 4) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知食安発第 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について」, 平成 17 年 1 月 24 日
- 5) Yumi A, Tomofumi M, Takao M: Multi-residue screening method of acidic pesticides in agricultural products by liquid chromatography/time of flight mass spectrometry. J. Pestic. Sci, **34**(4), 265-272 (2009)
- 6) 渡邊美奈恵, 上野英二, 井上知美, 大野春香, 猪飼誉友, 森下智雄, 大島晴美, 林 留美子: LC-MS/MS による農産物中残留農薬の一斉分析, 食衛誌, **54**(1), 14-24 (2012)
- 7) Shizuka S-S, Satoru N, Hiroshi A: Multiresidue method for determining multiclass acidic pesticides in agricultural foods by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Analytical Methods, **13**(7), 894-902 (2021)
- 8) 科学技術庁資源調査会: 本表. 五訂日本食品標準成分表, 大蔵省印刷局, 東京, 2000, pp.29-303
- 9) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知食安発第 1224 第 1 号「食品中に残留する農薬等に関する試験法の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
- 10) 文部科学省ホームページ: 食品成分データベース, <https://fooddb.mext.go.jp/index.pl> (確認: 2025 年 6 月 6 日)