

# GC/MS/MSによる残留農薬の一斉分析

## Simultaneous Determination of Multiresidue Pesticide using GC/MS/MS

氏家 愛子 長谷部 洋 佐藤 勤  
Aiko UJIIE, Hiroshi HASEBE, Tsutomu SATO

各試験機関において残留農薬等を通知で定める試験法以外の方法で試験をする場合に、その試験法が通知法と同等な試験法として妥当かどうかを評価するガイドラインが平成19年11月に制定された。当所では、現在、農薬検査をGC/MS-SCAN, GC/MS-SIM および LC/MS/MS-MRM による一斉分析法で実施している。GC/MS測定においては、試験溶液中の夾雑物により定量妨害が生じる場合が多いため、この妨害を低減し、ガイドラインの基準に適合する農薬数を増大することを目的としてGC/MS/MS-MRMによる一斉分析法を検討した。この結果、GC/MS/MSを使用することで夾雑物による妨害を除去することができ、しゅんぎく等夾雑物による定量妨害が大きい試料溶液において有効であることが確認できた。また、試料溶液の定量下限値をGC/MSの1/5である20ng/mLにできるため、試料溶液調製の精製操作において負荷する抽出量を現行法の1/5にすることができ精製効果の向上が期待できた。

キーワード：残留農薬；一斉分析法；GC/MS/MS；GC/MS

**Key words**：Multiresidue Pesticide；Simultaneous Analysis Method；GC/MS/MS；GC/MS

### 1 はじめに

ポジティブリスト制度の施行により、平成20年4月現在、800種類を超える農薬等に残留基準が設定されている。当所では平成16年から「緊急時における畜水産食品中の新たな残留物質に関する検査法迅速作成ガイドライン」に準じ、漸次分析対象農薬数の拡大を図って来た。平成19年度には、野菜・果実20品目について329農薬（異性体等含356）を対象に検査を実施し、標準添加回収率が60%～140%（添加量：試料換算0.01ppm）の範囲であった276～314農薬<sup>1)</sup>の定量を行った。

一方、昨年11月には、各試験機関において、残留農薬等を通知で定める試験法（以下通知法）以外の方法で試験をする場合に、その試験法が通知法と同等な試験法として妥当かどうかを評価するガイドライン<sup>2)</sup>が制定された。ガイドラインのそれぞれの基準を満足する試験法が、通知法と同等な試験法とみなされる。当所のGC/MS-SCAN, GC/MS-SIM および LC/MS/MS-MRM による一斉分析法（以下現行法<sup>3-5)</sup>）では、回収率を60%～140%としているため、ガイドラインによる回収率70%～120%を適用した場合、野菜・果実の定量可能農薬数は大幅に減少する。現行法では、調製した試料溶液についてGC/MSおよびLC/MS/MSにより定量を行っているが、GC/MS測定では試料溶液中に残る夾雑物のピークが目的農薬ピークに重なるなど定量を妨害することが多い。そこで、現在GC/MS測定において、試験溶液中のマトリックスにより生じる妨害を最小限にし、分析精度を上げることを目的としてGC/MS/MS-MRM（Multiple Reaction Monitoring）による一斉分析定量法を検討した。

### 2 実験方法

#### 2.1 試料

H19年度に行政検査を実施した野菜・果実のうち、しゅんぎく、りんご、レタス、日本なしおよびほうれんそうを使用した。

#### 2.2 装置

- ・GC/MS：Agilent社製6890/5973 inert
- ・GC/MS/MS：Varian社製1200, 8400 Autosampler
- ・LC/MS/MS：Applied Bio Systems社製, API3000

#### 2.3 GC/MS/MS測定条件

- ・GC条件：カラム；DB-5MS (0.25mm i.d. × 30m, 膜厚0.25μm), オープン温度；70℃ (2分) → 25℃ / 分 → 150℃ (0分) → 3℃ / 分 → 200℃ (0分) → 8℃ / 分 → 280℃ (10分), 流速；1.5mL/min, 注入口温度；180℃, パルスドスプリットレス注入；40psi, 注入量；2μL
- ・MS/MS条件：GC/MS測定対象260農薬（異性体等含）のGC/MS/MS-MRM分析条件を最適化してプリカーサーイオン、プロダクトイオン、コリジョンエネルギーを決定し、定量イオン、確認イオンをそれぞれ設定した。Dwell Timeにより1セグメントの農薬数が制限されるため2分析メソッドを作成した。MS/MS条件を表1に示した。

#### 2.4 試料溶液調製

GC/MS測定用試料溶液は、試料20gに各農薬が200ngになるように混合標準溶液を添加し現行法の試料溶液調製法で調製を行った。すなわち、野菜試料はアセトニトリル50mLを加えバイオミキサーで2分間抽出をした後、食塩6gを加えて5分間振とう塩析をし、2500rpmで5分間遠心分離を行う。アセトニトリル層を分取した後、残さにアセトニトリルを25mL加え5分間振とう後遠心分離を行い、アセトニトリル層を合わせて

表1 GC/MS/MS-MRM 測定条件, 検出下限値, 定量下限値および標準添加回収試験結果 (冷凍餃子)

添加量: 試料換算0.01ppm									
メソッド1					メソッド2				
農薬名	定量イオン, 確認イオン ( ) 内数字: コリジ ョンエラー	3S	10S	冷凍餃子 回収率 (%)	農薬名	定量イオン, 確認イオン ( ) 内数字: コリジ ョンエラー	3S	10S	冷凍餃子 回収率 (%)
ジクロロホス	185>109 (15), 185>93 (30)	3	9	63±7.4	イマブスルフロ	154>98 (25), 154>57 (20)	3	12	63±6.5
EPTC	128>86 (10), 128>43 (10)	3	11	59±8.8	ブロンモカルブ	143>99 (15), 143>71 (20)	5	15	89±140
メチソフオス	192>127 (5), 192>164 (5)	2	8	89±2.4	アセフェート	136>94 (15), 136>42 (25)	2	7	16±24
エトリゾアゾール	211>183 (10), 211>140 (20)	3	9	76±6.7	メタクリホス	208>180 (10), 208>93 (15)	2	6	76±3.5
クロキブ	191>141 (15), 191>113 (15)	3	10	78±2.2	オルトフェニルフェノール	170>115 (30), 170>141 (25)	2	8	81±3.0
イソブロカルブ	121>103 (15), 121>77 (20)	2	8	89±3.0	モリネート	187>126 (10), 187>98 (20)	1	4	74±6.2
XMC	122>107 (10), 122>77 (25)	2	7	91±1.7	テナゼン	261>203 (15), 261>231 (10)	1	5	72±5.7
ブロンクロール	176>120 (20), 176>92 (20)	3	9	82±2.4	ブロンキスル	152>110 (10), 110>64 (20)	1	5	81±3.2
ジフェニルアミン	169>66 (20), 169>168 (15)	3	8	87±2.6	エトブロン	242>158 (10), 242>127 (15)	2	7	87±3.2
ナレド	145>109 (15), 145>113 (15)	1	5	0.0	クロルブロファム	127>65 (25), 127>92 (25)	2	6	83±3.2
トリフルアリン	306>264 (10), 264>160 (25)	2	7	89±1.5	ベンフルアリン	292>264 (10), 292>160 (20)	2	5	85±5.5
モノクロホス	223>97 (10), 223>127 (25)	3	9	120±4.2	カスサホス	159>97 (25), 159>131 (15)	2	6	83±4.7
ホレート	260>75 (15), 121>93 (6)	3	9	82±1.1	α-BHC	183>147 (20), 183>109 (20)	2	8	77±1.4
ヘキサクロヘンゼン	284>249 (20), 284>214 (25)	4	15	38±5.2	チオメト	125>47 (20), 125>93 (20)	2	5	66±4.5
ジクロラン	206>176 (15), 206>124 (25)	3	10	84±3.6	ジメエート	125>79 (15), 125>47 (25)	3	11	88±4.3
カルボフラン	149>103 (15), 149>121 (10)	2	7	89±4.1	ブロンメト	225>183 (10), 225>168 (15)	1	5	85±1.7
シマジ	201>173 (5), 201>138 (10)	3	10	88±2.7	スウェッ	219>187 (10), 219>174 (15)	2	8	84±2.3
β-BHC	181>145 (15), 181>109 (30)	3	10	89±2.8	アトジ	200>105 (10), 200>132 (15)	1	3	87±3.7
ジメチン	124>76 (10), 118>58 (10)	4	12	98±4.2	キントゼン	295>237 (10), 295>265 (15)	2	8	75±3.7
クロマリン	125>89 (15), 125>99 (15)	2	8	89±3.9	クロタロコ	266>168 (30), 266>133 (45)	25	83	82±88
γ-BHC	181>145 (15), 181>109 (30)	3	10	86±1.2	ブロンジン	214>172 (10), 214>105 (15)	2	7	85±4.7
ブロンタンホス	138>64 (15), 138>110 (10)	2	6	94±5.1	シアノホス	243>109 (15), 243>79 (25)	1	4	80±3.4
ホノス	246>137 (10), 246>109 (20)	3	10	90±2.3	ブロンヒミド	254>226 (10), 254>191 (15)	3	9	85±4.8
ダアジン	304>179 (25), 179>122 (25)	3	12	94±2.9	ヒロキ	173>130 (20), 173>144 (25)	2	7	89±3.5
ヒロキ	198>118 (30), 198>183 (25)	2	8	90±2.6	イソブロン	257>162 (25), 257>119 (25)	3	10	83±5.2
ジスホス	142>109 (10), 142>81 (15)	2	8	75±5.0	ターバシ	161>144 (20), 161>88 (25)	3	9	89±0.4
エトリホス	292>153 (20), 292>181 (10)	3	10	90±3.9	テラルリン	177>127 (15), 177>137 (15)	2	7	82±1.4
トリアレート	268>184 (15), 268>226 (15)	3	10	83±3.2	δ-BHC	217>181 (10), 217>145 (20)	3	10	73±2.5
イソロンホス	204>91 (10), 204>121 (25)	2	7	92±1.7	ヘキサコル	259>120 (15), 259>176 (10)	1	5	84±2.8
オキサトリニル	103>76 (15), 103>50 (15)	9	29	72±6.5	ホスファミン	264>127 (15), 264>193 (10)	2	7	85±2.7
ジメナミド	230>154 (15), 230>111 (25)	3	9	95±2.5	ブロンセート	256>163 (15), 256>121 (20)	1	5	85±1.7
ブロンセル	217>161 (15), 217>57 (20)	2	8	96±1.0	ブロンチ	232>114 (10), 232>82 (20)	2	5	84±3.5
アセトクロール	223>132 (20), 223>147 (10)	4	13	90±4.1	クロルヒリホスチル	286>93 (25), 286>208 (15)	2	6	81±3.8
メトリジン	198>82 (20), 198>110 (10)	3	12	92±3.6	トルクロホスチル	265>250 (15), 265>93 (25)	2	7	84±2.9
ビロンリン	285>212 (15), 285>241 (5)	4	13	89±8.1	シモノザール	211>195 (10), 211>121 (15)	2	8	89±6.5
ハラチオメチル	263>109 (10), 263>127 (10)	3	11	93±2.8	ヘタクロ	272>237 (15), 272>141 (30)	2	7	80±4.4
アラコル	160>132 (10), 160>145 (20)	2	8	94±2.3	メタキシル	249>190 (10), 249>146 (20)	2	6	87±6.0
シメリン	213>155 (15), 213>139 (20)	3	11	90±3.0	フェンクホス	285>240 (25), 285>93 (25)	3	9	79±3.3
アメリン	227>170 (15), 227>212 (15)	2	6	92±3.7	ブロンリ	226>184 (10), 226>94 (20)	2	7	84±4.0
シメチン	123>81 (15), 274>111 (15)	2	6	110±5.1	ヒリホスチル	305>125 (5), 305>151 (20)	1	4	85±2.2
ジチオピ	354>306 (10), 354>286 (20)	2	7	91±1.8	エトメート	286>207 (15), 286>161 (15)	2	6	85±5.1
フェトチオン	277>260 (10), 277>109 (15)	2	8	94±2.2	ブロンシ	205>132 (30), 205>188 (30)	2	7	86±5.5
テラルリン	226>96 (15), 226>136 (10)	3	12	92±3.2	ジクロルアノ	123>77 (20), 123>122 (10)	3	9	0.0
ブロンナゾール	159>130 (5), 159>90 (25)	3	9	0.0	エスブロカルブ	222>91 (15), 222>151 (10)	2	5	84±4.4
マラチオン	173>99 (15), 173>127 (10)	3	9	87±1.5	キノケラ	207>172 (15), 207>154 (25)	2	5	79±3.3
メトラコル	238>162 (20), 238>133 (25)	2	8	91±2.0	クロルヒリホス	314>258 (20), 314>286 (10)	2	5	82±3.6
アルドリン	263>193 (25), 263>228 (30)	4	13	80±3.4	クロルタルジメチル	301>223 (20), 301>273 (15)	3	9	80±4.1
チオベンカルブ	257>100 (10), 257>72 (20)	3	9	92±1.8	フェンロビモル	128>70 (15), 128>110 (10)	2	7	85±4.4
ジメチルホス(E)	295>109 (20), 295>280 (20)	2	6	95±2.3	ハラチオ	291>109 (20), 291>137 (10)	1	4	86±7.0
フェンチオン	278>109 (20), 278>125 (25)	3	9	90±2.7	ジコホ	139>111 (15), 139>75 (30)	1	5	84±2.3
トリアジメホ	208>181 (10), 208>127 (20)	1	4	93±3.1	アライト	243>215 (20), 243>177 (20)	2	5	81±3.0
テトラコザール	336>204 (30), 336>156 (30)	2	6	92±5.8	ブロンホスチル	331>316 (10), 331>286 (20)	3	8	76±5.0
カルバチド	119>64 (20), 119>91 (15)	3	9	110±1.9	ジフェナミド	239>167 (25), 239>152 (25)	2	6	80±4.6
ニトロタルイソブロン	236>194 (10), 236>148 (15)	2	8	93±3.4	ベンテイタリン	252>162 (10), 252>191 (10)	1	5	86±4.2
ホスチアレート	195>103 (10), 195>139 (10)	4	12	98±3.2	ヘタクロエホキド	353>263 (30), 353>282 (15)	2	7	84±2.2
α-クロルフェンホス	267>159 (30), 267>203 (15)	3	9	93±3.8	ヘンコナザール	248>157 (30), 248>192 (20)	2	8	87±5.5
フィプロル	367>213 (25), 367>255 (25)	3	9	93±5.1	トリフルアノ	238>137 (20), 238>110 (30)	1	5	11±7.2
ジメタメリン	212>122 (15), 212>94 (30)	2	8	88±2.6	イソフェホス	213>121 (20), 213>185 (10)	2	7	87±2.3
ヒリフェックス(E)	262>91 (15), 262>192 (25)	2	5	86±2.1	チアベンタゾール	201>174 (15), 201>130 (25)	2	6	27±15
β-クロルフェンホス	267>159 (30), 267>203 (15)	3	10	*	カルバム	131>74 (15), 131>86 (15)	3	10	88±4.4
アレスリン	123>95 (10), 123>81 (10)	2	8	80±2.6	キャブタン	149>105 (10), 149>79 (10)	5	18	0.0
エチロレート	165>111 (25), 165>102 (15)	2	7	83±6.1	フェトエト	274>125 (20), 274>93 (20)	2	7	88±6.6
キナルホス	298>156 (10), 298>190 (20)	2	6	89±5.4	ジメヒレート	145>112 (10), 145>69 (15)	2	6	86±4.4
トリアジメノール	168>70 (10), 168>112 (10)	2	5	95±3.4	トシミド	283>96 (20), 283>255 (15)	1	3	90±4.3
ホルベット	260>130 (20), 260>232 (10)	4	14	46±63	trans-クロルデン	375>266 (20), 375>301 (15)	2	8	79±4.3
クロルベンジド	270>125 (15), 270>127 (20)	3	9	84±1.8	メチチオン	145>85 (15), 145>58 (20)	1	3	85±2.9
ブロンホス	304>140 (30), 304>220 (15)	3	8	88±3.1	ヒリフェックス(Z)	262>192 (20), 262>200 (20)	2	8	85±4.4
テトラクロルピホス	331>109 (20), 331>316 (25)	2	8	90±4.7	メトレン	153>111 (5), 153>107 (5)	4	13	25±55



無水硫酸ナトリウムで脱水を行う。果実試料は、0.1mol/L 炭酸水素ナトリウム溶液および精製水で pH を中性付近に調製後<sup>4)</sup>、野菜試料と同様に抽出（食塩は 12g 添加）して脱水を行う。その後、40℃ 以下で濃縮乾固後、アセトニトリル/トルエン（3/1）3mL で溶解する。直列につないだ Carbograph（上）と SAX/PSA（下）に負荷し、さらにアセトニトリル/トルエン（3/1）2mL でフラスコ内を洗浄して負荷する。アセトニトリル/トルエン（3/1）15mL で溶出後、40℃ 以下で濃縮乾固してアセトン 2mL で溶解し GC/MS 測定用試料溶液とした。また、GC/MS/MS 測定用試料溶液はこの GC/MS 測定用試料溶液をアセトンで 5 倍に希釈調製した。冷凍餃子については、抽出操作を GC/MS 測定用試料溶液調製と同様に行い、抽出溶液を 100mL に定容した後、20mL（現行法の 1/5）を分取して濃縮乾固した。精製以降は現行法と同じに行った。

### 3 結果

#### 3.1 検量線および定量下限値

GC/MS/MS-MRM 測定の検量線は、農薬を含まない測定対象品目の試料溶液をアセトンで 2 倍に希釈し、この溶液で表 1 に示した農薬混合標準溶液 0ng/mL, 10ng/mL, 20ng/mL, 50ng/mL, 100ng/mL を調製して作成し定量を行った。検量線は二次曲線を用いた。

残留農薬が検出されなかったしゅんぎくの試料溶液で調製した 20ng/mL の混合標準溶液について 6 回繰り返し測定を行い、その標準偏差 (S) から検出下限値 (3S) および定量下限値 (10S) を求め表 1 に示した。TPN, オキサベトリニルおよびフェノキシカルブを除く全ての農薬で検出下限値は 10ng/mL, 定量下限値は 20ng/mL 以下であった。メトプレンおよび TPN は最適化で求めた条件のいずれを使用してもピークが消失して定量ができなかった。しかし、オキサベトリニルおよびフェノキ

シカルブの 20ng/mL のクロマトグラムについては S/N 値 10 以上を十分確保することができるため、メトプレンおよび TPN を除く全ての農薬の定量下限値を試料溶液濃度として 20ng/mL とした。現行法での GC/MS 測定では定量下限値は 100ng/mL（試料換算 0.01ppm）である。

#### 3.2 GC/MS による測定値と GC/MS/MS による測定値との比較

現行法による試料溶液の GC/MS-SCAN, GC/MS-SIM 測定において夾雑物による妨害ピークが大きく検出されたしゅんぎくのトータルイオンクロマトグラム (TIC) を図 1 に示した。また、GC/MS/MS-MRM による測定値と GC/MS-SCAN, GC/MS-SIM による測定値との差を併せて図 2 に示した。TIC において保持時間が夾雑物による妨害ピークと重なる農薬において、GC/MS/MS と GC/MS の測定値の差が大きいことが判明した。そこで、測定対象全農薬の GC/MS 測定値と GC/MS/MS による測定値との関係について図 2 に示した。しゅんぎくの試験全体(a)においては、GC/MS 測定による回収率が 70%未満または 120%を超える農薬は 53 農薬であったが、GC/MS/MS 測定ではこれらの 53 農薬のうち 33 農薬について回収率 70%~120%を確保することができた。一方、GC/MS 測定値が回収率 70%~120%であった 5 農薬において GC/MS/MS 測定値がこの範囲を逸脱した。そのうちのプロパモカルブについては GC/MS で 86%, GC/MS/MS で 35%でその差が 51%と大きく GC/MS 測定でのマトリックス由来の加算が示唆された。また、GC/MS 測定において夾雑物による妨害ピークと保持時間が重なる農薬を抽出(b)してみると、15~19分, 21分~25分, 29.5~32分の保持時間には 106 農薬が検出されており、そのうち、GC/MS 測定による回収率が 70%未満または 120%を超える農薬は 37 農薬であった。GC/MS/MS 測定ではこれらの 37 農薬のうち 24 農

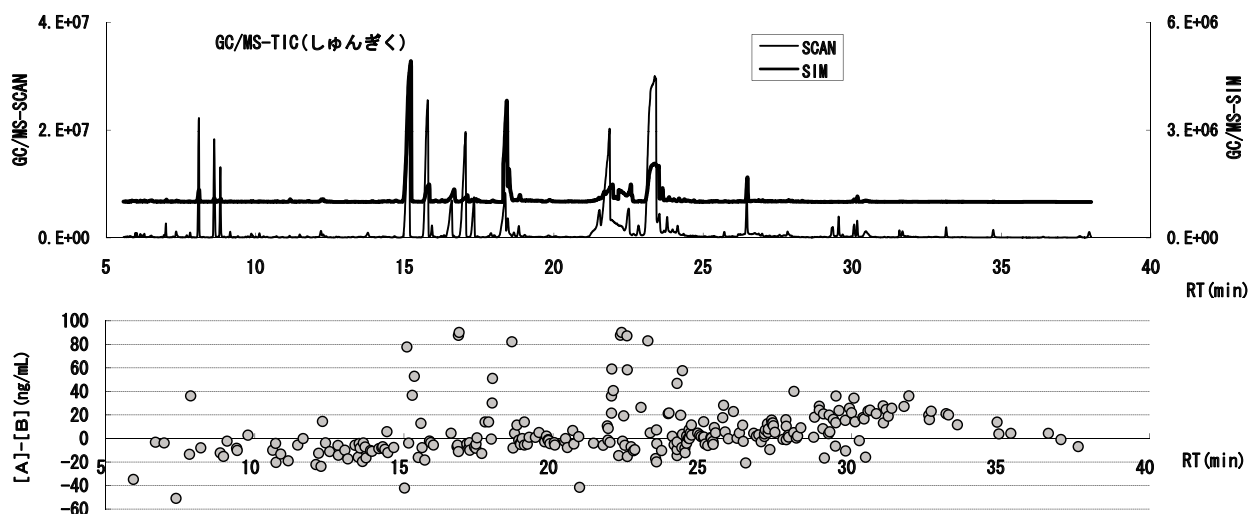


図 1 添加回収試験における GC/MS-TIC と GC/MS/MS および GC/MS による測定値の差  
[A] : GC/MS/MS-MRM による測定値, [B] : GC/MS-SCAN, GC/MS-SIM による測定値

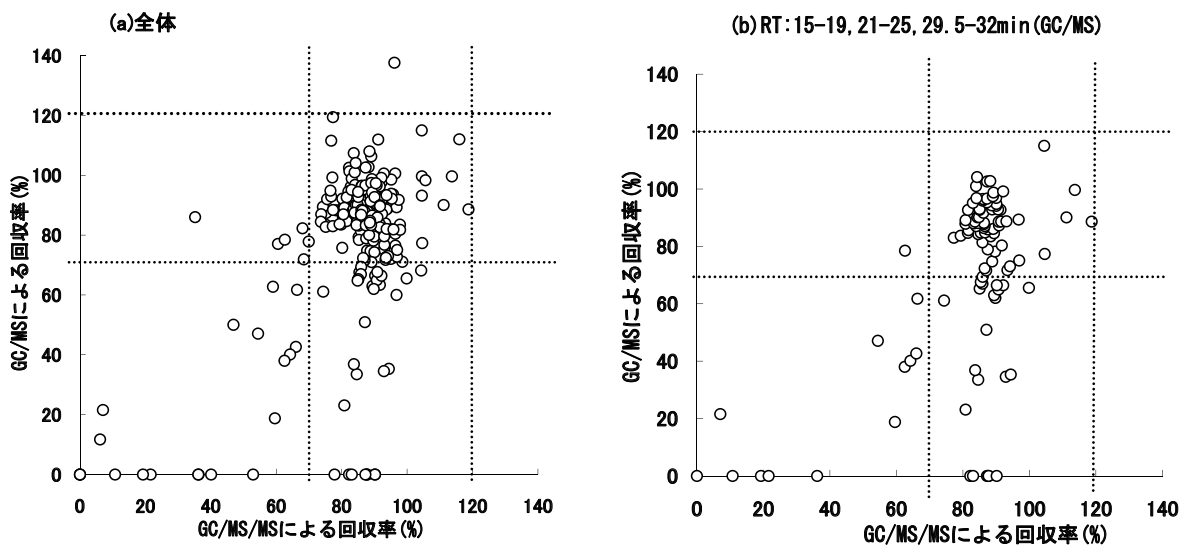


図2 添加回収試験における GC/MS/MS による測定値と GC/MS による測定値の関係 (しゅんぎく)

表2 標準添加回収試験における回収率70%～120%の農薬数

添加量：試料換算0.01ppm

品目	GC/MS測定対象農薬		LC/MS/MS 測定対象農薬
	GC/MS/MS	GC/MS	
レタス	221	223	70
日本なし	227	222	70
しゅんぎく	223	195	69
りんご	230	223	70
ほうれんそう	215	218	68

注1) LC/MS/MSによる定量数は、同時抽出液を従来法により試験を行い回収率70%～120%であった農薬数を参考に示したものである。

薬について回収率70%～120%を確保することができた。これら24農薬は、しゅんぎく全体(33農薬)での73%にあたり、GC/MS/MS-MRM測定が夾雑物による定量妨害を除去するために有効であることが確認された。

しゅんぎく、りんご、レタス、日本なしおよびほうれんそうについて、回収率70%～120%を確保できた定量可能農薬数をGC/MS測定およびGC/MS/MS測定とで比較を行った(表2)。この結果、GC/MS/MS-MRM測定を採用して試料溶液中の夾雑物の影響を除くことにより、5品目の定量可能農薬数は215～230農薬とすることができた。表中LC/MS/MSによる定量数は、同時抽出液を従来法により試験を行い回収率70%～120%であった農薬数を参考に示したものである。

### 3.3 冷凍餃子中の残留農薬検査への適用

平成20年1月に兵庫県および千葉県で発生した健康被害を発端として、中国産餃子中の高濃度の残留農薬汚染が社会問題化した。当県でも有症苦情が起きたことを受け、本法での冷凍餃子の一斉分析について添加回収試験(添加量:試料換算0.01ppm)を行い検査を実施した。回収試験結果を表1に示した。

冷凍餃子においては、GC/MS/MS測定により226農薬について回収率70%～120%、RSD25%未満を確保することができた。また、同抽出液を用いて検査を行っ

たLC/MS/MSによる測定では56農薬について回収率70%～120%、RSD20%未満を確保することができ、冷凍餃子中の282農薬を検査をすることができた。

有症苦情で検査を行った冷凍食品は餃子やロールキャベツ等5種類であったが、餃子1検体にプロシミドンが0.03ppm検出されたほか全ての検体で検出下限値0.005ppm未満であった。プロシミドンに係る野菜の残留基準値は、にら、にんにくおよびねぎが5ppm、キャベツが2ppm、はくさいが0.5ppm、豚肉筋肉が0.05ppm、しょうがが0.02ppm、小麦粉(小麦として)が0.02ppmであることから、材料比率が不明であるものの、具材として使用された野菜中の残留農薬由来のものと考えられた。

## 4 まとめ

農薬一斉分析法についてGC/MS測定農薬を対象としたGC/MS/MS-MRM一斉分析の検討を行った。GC/MS/MSを使用することにより夾雑物による妨害を除去することができ、試料溶液の夾雑物による定量妨害の大きいしゅんぎく等で有効であった。また、試料溶液の定量下限値が全ての農薬でGC/MSの1/5である20ng/mLを確保するため、試料溶液調製の精製操作において負荷する抽出液量を1/5にすることができ精製効果の向上が期待できた。

## 参考文献

- 1) 生活化学部“平成19年度生活化学部検査結果”，宮城県保健環境センター年報，26，107（2008）.
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知“食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当評価ガイドラインについて”平成19年11月15日，食安発第1115001号（2007）.
- 3) 氏家愛子，佐藤信俊：宮城県保健環境センター年報，23，55（2005）.
- 4) 氏家愛子，柳田則明：宮城県保健環境センター年報，24，58（2006）.
- 5) 氏家愛子，長谷部洋，柳田則明：宮城県保健環境センター年報，25，58（2007）.