

4) LC/MS/MS を用いた食品中の残留農薬迅速分析法の検討 (第3報)

— 玄米試料を用いた分析法バリデーション —

村川 弘 飛野 敏明

はじめに

当所では、食品中の残留農薬迅速分析法として、含水アセトニトリル抽出と液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計を用いた試験法（以下「溶媒抽出-LC/MS/MS法」という。）を開発した。¹⁾ また、溶媒抽出-LC/MS/MS法について、リンゴ及びホウレンソウ試料を用い、分析法妥当性評価ガイドライン²⁾ に準拠したバリデーションの結果を前報³⁾ で報告した。今回、さらに同試験法の玄米試料によるバリデーションを実施したので、結果を報告する。

実験

1 試薬

混合標準：各標準を秤量、メタノール又はアセトンに溶解し、1000mg/l あるいは 100mg/l を調製した。これらを混合し、メタノールで 500 μ g/l に調整した。検量線用は、適宜 35%含水アセトニトリルで希釈した。

2 装置及び分析条件

HPLC 装置：Waters 社製 Waters2795

分析カラム：Waters 社製 Symmetry shield(4.6mm ϕ \times 100mm, 3.5 μ m), 注入量:20 μ l, カラム温度:40 $^{\circ}$ C, 移動相:A 液(水), B 液(メタノール), C 液(500mM 酢酸アンモニウム), D 液(0.5%ギ酸)

MS/MS 装置：Waters 社製 Quattro Premier

イオン化法:ESI, 分析モード:MRM(ポジティブ・ネガティブ 同時測定), Capillary:3.45(-2.8)kV, Source Temperature:120 $^{\circ}$ C, Desolvation Temperature:350 $^{\circ}$ C, Cone Gass Flow:50 ℓ /h, Desolvation Gass Flow:1000 ℓ /h

3 試験方法

1) 試料

玄米をミルサーで粉碎・均質化して試料とした。

2) 添加回収試験

試料 5g に標準液（表 1 に示す 330 農薬成分を含有する。）を 10 及び 50ng/g になるように添加し、溶媒抽出

-LC/MS/MS 法により、分析者 3 名でそれぞれ添加試料を 1 日 2 回、2 日間分析した。

結果及び考察

バリデーションの結果を表 1 に示す。添加濃度 50ng/g では、ガイドラインの目標値に適合した農薬成分数は 249, 10ng/g では、247 であった。

適合農薬成分では、全体的に回収率が高く、真度の平均値は、両添加濃度とも 95%以上であり、50ng/g と 10ng/g で真度に大きな差がある適合成分はほとんどなかった。不適合農薬成分のうち、真度不適のものは、50ng/g で 45, 10ng/g で 51 であった。また、真度適合で精度不適合の農薬成分は、50ng/g で 36, 10ng/g で 32 認められた。精度不適合の理由の一つとして、試料マトリックスのイオン化阻害による定量値のばらつき等が推測されるが、原因は不明であった。また、今回のバリデーションでは、前報のリンゴ及びホウレンソウによるバリデーションと比較して、適合農薬成分数が少なかったが、330 農薬成分中 250 成分近くが 95%以上の真度で適合し、本法の食品中残留農薬迅速分析法としての妥当性は確認できた。

なお、今後の課題としては、玄米等の水分が少なく、脂肪含有量の大きい試料については、抽出・精製法の検討が必要と考えられた

参考資料

- 1) 西名武士, 村川 弘, 福島孝兵, 飛野敏明 : 熊本県保健環境科学研究所報, **35**, 51-56 (2005).
- 2) 「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 日付け食安発第 1115001 号)
- 3) 福島孝兵, 増永ミキ, 宮原喜子, 飛野敏明 : 熊本県保健環境科学研究所報, **37**, 36-47 (2007).

表 1 バリデーション結果

*ガイドラインにおける真度及び精度の目標値を満たすものを◎とした。

No.	農薬成分名	50ng/g		10ng/g		No.	農薬成分名	50ng/g		10ng/g	
		平均回収率	判定	平均回収率	判定			平均回収率	判定	平均回収率	判定
1	EPTC	108.12	◎	101.58	◎	84	Tebuthiuron	105.45	◎	97.17	◎
2	MCPA Ethylester	99.25				85	Tebfenoid	101.32	◎	90.25	◎
3	MCPB	71.22				86	Tebphenpirad	97.90	◎	89.08	◎
4	TCMTB	52.33				87	Tepraloxymid1	101.18	◎	93.75	◎
5	Ioxynil	82.28	◎	79.83	◎	88	Tepraloxymid2	97.48	◎	101.42	◎
6	Acibenzolaric Acid	81.67	◎	77.58	◎	89	Teflubenzuron	95.93	◎	100.50	◎
7	Acibenzolar-s-Methyl	101.92	◎	91.67	◎	90	Demethons Methyl	107.58	◎	103.92	◎
8	Azimsulfuron	95.77	◎	96.83	◎	91	Tralkoxydime1	107.20	◎	79.50	
9	Asulam	94.07	◎	92.17	◎	92	Tralkoxydime2			90.33	◎
10	Azinphos Methyl	102.65	◎	81.25		93	Triasulfuron	95.97	◎	96.08	◎
11	Acequinocyl	45.52		52.25		94	Trichlorfon	85.87	◎	92.50	◎
12	Acetamiprid	99.42	◎	100.67	◎	95	Triticonazole	103.55	◎	95.00	◎
13	Acephate	109.47	◎	103.17	◎	96	Tridemorph1	79.18	◎		
14	Azoxystrobin	101.58	◎	96.75	◎	97	Tridemorph2	88.72	◎		
15	Anilazine	72.98		52.83		98	Trinexapac	66.70			
16	Anilofos	101.17	◎	90.42	◎	99	Triflumuron	102.98	◎	87.33	◎
17	Abamectin B1a	115.03		115.17		100	Tolyfloxysulfuron	96.08	◎	100.17	◎
18	Aramite	97.23	◎	92.33	◎	101	Naproanilide	99.30	◎	95.50	◎
19	Aldoxycarb	100.98	◎	103.17	◎	102	Nicosulfuron	101.68		99.25	◎
20	Iprodion	106.33	◎	54.42		103	Nitenpyram	106.05	◎	104.50	◎
21	Iprovalicarb	101.72	◎	95.58	◎	104	Norflurazon	100.77	◎	98.08	◎
22	Imazaquin	91.58	◎	83.92	◎	105	Paclobutorazol	98.55	◎	93.92	◎
23	Imazamethabenz Methylester	102.23	◎	98.25	◎	106	Vamidition	99.85	◎	94.33	◎
24	Imazamox	86.30	◎	85.42	◎	107	Vamidothion Sulfone	95.18	◎	94.92	◎
25	Imibenconazole	98.37	◎	88.08	◎	108	Halosulfuron Methyl	97.22	◎	92.17	◎
26	Imibenconazol DB	99.43	◎	99.25	◎	109	Bioresmethrin	87.08	◎	88.33	◎
27	Indoxacarb	94.77	◎	89.25	◎	110	Picolinafen	97.47	◎	104.67	◎
28	Ethamsulfuron Methyl	97.40	◎	99.50	◎	111	Bitertanol	101.15	◎	78.50	
29	Ethychlozate	102.17	◎	91.67	◎	112	Hymexazol	96.52	◎		
30	Ethoxysulfuron	97.75	◎	93.42	◎	113	Pymetrozine	99.98	◎	97.42	◎
31	Ethophenprox	82.82	◎	91.08	◎	114	Pyraclostrobin	98.42	◎	89.17	◎
32	Epoxiconazole	103.37	◎	93.83	◎	115	Pyrazosulfuron Ethyl	99.89	◎	93.83	◎
33	Oxadixyl	98.82	◎	96.33	◎	116	Piridafention	102.57	◎	94.83	◎
34	Oxamyl	99.77	◎	99.75	◎	117	Piridaben	91.38	◎	96.08	◎
35	Oxycarboxin	99.08	◎	95.75	◎	118	Pyriothiobac Sodium	92.18	◎	93.75	◎
36	Carbendazim	104.12	◎	100.17	◎	119	Pyritalid	105.23	◎	94.50	◎
37	Thiofanate Methyl	102.58	◎	97.50	◎	120	Pirimicarb	103.00	◎	97.50	◎
38	Quizalofop Ethyl	100.55	◎	95.33	◎	121	Pyroquilon	101.03	◎	93.33	◎
39	Quinoclamine	107.35	◎	103.58	◎	122	Fenarimol	102.18	◎	110.08	◎
40	Chinomethionat	87.30	◎	88.17	◎	123	Fenoxaprop Ethyl				
41	Clethodime1	114.07	◎	139.17		124	Fenimzone	102.53	◎	95.75	◎
42	Clethodime2	94.88	◎	66.92		125	Fenpyroxymate	97.87	◎	96.25	◎
43	Cloquintocet Mexyl	96.57	◎	92.92	◎	126	Fenbconazol	100.10	◎	78.00	◎
44	Clodinafop Propagyl	99.50	◎	89.92	◎	127	Fenhexamide	98.95	◎	79.83	◎
45	Clothianidin	103.25	◎	95.08	◎	128	Fenmedipham	97.62	◎	87.00	◎
46	Crofosfentezine	99.60	◎	83.92	◎	129	Buprofedjin	100.50	◎	85.42	◎
47	Chromafenozide	102.57	◎	101.67	◎	130	Fluquinconazole	98.93	◎	98.50	◎
48	Clomeprop	99.00	◎	103.42	◎	131	Fludioxonil	86.67	◎	95.25	◎
49	Chloridazon	98.87	◎	90.67	◎	132	Flusilazole	97.23	◎	83.83	◎
50	Chlorimuron Ethyl	100.32	◎	93.33	◎	133	Flufenacet	103.12	◎	93.33	◎
51	Chlorsulfuron	96.83	◎	102.08	◎	134	Flufenoxuron	95.12	◎	97.58	◎
52	Chlorbufam	91.43	◎	78.00		135	Flumetsulam	88.90	◎	99.50	◎
53	Chlorflazuron	92.78	◎	105.67	◎	136	Propanil	103.75	◎	99.58	◎
54	Chlormequat	100.08	◎	109.42	◎	137	Propamocarb	105.85	◎	109.08	◎
55	Chloroxuron	102.15	◎	98.33	◎	138	Propiconazole	101.65	◎	96.17	◎
56	Fenbutatin Oxide	10.67		13.17		139	Profenofos	101.75	◎	95.08	◎
57	Cyanazine	100.92	◎	95.08	◎	140	Prohexadione	62.52			
58	Cyclanilide	88.24	◎	82.42	◎	141	Bromacil	101.23	◎	96.50	◎
59	Cycloxydim1	94.95	◎	110.25	◎	142	Florasuram	95.53	◎	91.50	◎
60	Cycloxydim2	96.22	◎	80.17	◎	143	Hexaconazole	101.13	◎	87.83	◎
61	Diclosulam	94.25	◎	93.50	◎	144	Hexazinone	105.58	◎	97.92	◎
62	Dicrofulanide					145	Hexythiazox	92.58	◎	98.42	◎
63	Cycloprothrin	84.78	◎			146	Penconazole	100.07	◎	99.75	◎
64	Cinosulfuron	98.05	◎	103.17	◎	147	Pencycuron	98.43	◎	92.75	◎
65	Dinotefuran	101.40	◎	96.83	◎	148	Bensulfuron Methyl	98.73	◎	95.42	◎
66	Difenoconazol	99.07	◎	91.67	◎	149	Benzobicyclon	99.62	◎	90.08	◎
67	Cyprodinil	97.95	◎	94.58	◎	150	Bendaiocarb	102.77	◎	100.08	◎
68	Gibberellic Acid	96.80	◎	60.83		151	Fosthiazate	99.15	◎	95.25	◎
69	Dimethoate	95.25	◎	95.58	◎	152	Phosmet	88.13	◎	82.92	◎
70	Dimethomorph1	100.22	◎	98.17	◎	153	Myclobutanil	99.80	◎	92.33	◎
71	Dimethomorph2	101.27	◎	96.42	◎	154	Milbemectina3	96.62			
72	Cymoxanil	96.03	◎	84.42	◎	155	Milbemectina4				
73	Silafluofen	82.48	◎	73.92	◎	156	Mesosulfuron Methyl	94.47	◎	99.83	◎
74	Spinocyna			98.50	◎	157	Methomyl	162.18		178.92	
75	Spinocynd			87.25	◎	158	Methomyl Oxime	148.25		147.08	
76	Spirodiclofen	88.90	◎	105.67	◎	159	Metaldehyde	102.33	◎	100.58	◎
77	Sulfentrazone	96.10	◎	98.25	◎	160	Methabenzthiazuron	107.80	◎	98.75	◎
78	Setoxydim	103.15	◎	91.42	◎	161	Methamidophos	92.72	◎	93.83	◎
79	Thiazopyr	109.07	◎	88.92	◎	162	Methoxyfenozide	104.12	◎	96.17	◎
80	Thifensulfuron Methyl	92.40	◎	94.00	◎	163	Metosulam	96.27	◎	95.00	◎
81	Desmedipham	95.30	◎	94.08	◎	164	Metsulfuron Methyl	95.12	◎	94.25	◎
82	Tetraclorvinphos	104.25	◎	96.17	◎	165	Mepanipyrim	102.92	◎	101.08	◎
83	Tetraconazol	100.40	◎	97.42	◎	166	Mepiquat Chloride	88.92	◎	99.50	◎

表 1 バリデーション結果

*ガイドラインにおける真度及び精度の目標値を満たすものを◎とした。

No.	農薬成分名	50ng/g		10ng/g		No.	農薬成分名	50ng/g		10ng/g	
		平均回収率	判定	平均回収率	判定			平均回収率	判定	平均回収率	判定
167	Monocrotophos	100.48	◎	98.50	◎	249	Zoxamide	63.60		97.30	◎
168	Monolinuron	106.12	◎	101.50	◎	250	Terbacil	84.43	◎	79.50	
169	Linyuron	100.90	◎	106.67	◎	251	Diallate	62.22		90.45	◎
170	Rimsulfuron	71.30		98.33	◎	252	Thiacroprid	92.32	◎	89.00	◎
171	Lufenuron	103.22	◎	109.00	◎	253	Tiadinil	89.43	◎	102.00	◎
172	Cyflumetofen	95.22	◎	84.58	◎	254	Thiabendazol	89.28	◎	94.25	◎
173	Fonicamide Metabolite TFNA	86.12	◎	80.92	◎	255	Thiamethoxam	87.42	◎	99.27	◎
174	Fronicamide Metabolite TFNG	98.58	◎	89.25	◎	256	Thidiazuron	90.40	◎	97.64	◎
175	Metconazole Cis	102.18	◎	88.00	◎	257	Tebconazol	65.65		105.92	
176	Metconazol Trans	102.38	◎	88.42	◎	258	Tralomethrin1				
177	Cyhexatin					259	Tralomethrin2				
178	Inabenfide	100.60	◎	100.25	◎	260	Triadimenol	98.15	◎	118.33	
179	Imazosulfuron	95.00	◎	99.83	◎	261	Triadimephon	91.93	◎	77.00	
180	Indanofan	109.05		76.58		262	Triclopyr	82.87			
181	Etobenzanid	97.40	◎	91.33	◎	263	Triflusaluron Methyl	93.45	◎	119.25	◎
182	Oxaziclomefone	98.17	◎	92.67	◎	264	Triflumizol	61.83		94.33	◎
183	Diethofencarb	104.80	◎	87.25	◎	265	Naptaram	86.57	◎	69.00	
184	Teclotalam	97.15	◎	115.42	◎	266	Novaluron	63.43		105.92	◎
185	Trichlanide	100.70				267	Haloxyfop	83.43	◎	83.33	
186	Tricyclazole	99.87	◎	97.25	◎	268	Pyrazolynate	68.27		82.75	◎
187	Pyridalyl	77.02	◎	66.92		269	Primethanil	83.10	◎	104.92	◎
188	Fentrazamide	96.70	◎	94.25	◎	270	Pyrethrin1	95.03	◎	95.58	◎
189	Butylate	102.63	◎	80.33	◎	271	Pyrethrin2	54.35			
190	Pentoxazone	97.98	◎	100.83	◎	272	Fenamiphos	80.83		99.58	◎
191	Molinat	104.08	◎	87.08	◎	273	Fenoxycarb	65.97		104.73	
192	Lenacil	101.38	◎	96.00	◎	274	Fenobucarb	92.52	◎	99.42	◎
193	Nahusaku	81.90		152.75		275	Fenamidone	89.73	◎	104.00	◎
194	24-D	81.90	◎	76.92		276	Fenthion	68.57		124.50	
195	4-CPA	57.85		57.25		277	Butafenacil	94.95	◎	103.90	◎
196	DBEDC	86.58				278	Oxpoconazole	76.97		104.29	
197	MCPA	79.52	◎	84.42	◎	279	Flazasulfuron	94.18	◎	93.83	◎
198	Azamethiphos	93.97	◎	97.75	◎	280	Furathiocarb	53.82		83.63	
199	Acifluorfen	77.30		162.57		281	Flamprop Methyl	91.58	◎	95.75	◎
200	Alanycarb	71.05		80.08		282	Primisulfuron Methyl	100.57	◎	99.56	
201	Ardicarb	96.43	◎	83.83	◎	283	Furilazole	95.18	◎	89.17	
202	Iodosulfuronmethyl	95.02	◎	93.67	◎	284	Fluzinam	91.80	◎	76.75	◎
203	Isouron	95.83	◎	94.42	◎	285	Fluzifop	87.13	◎	109.50	◎
204	Isoxadifen Ethyl	66.92		79.14		286	Fluometuron	86.77	◎	103.58	◎
205	Isoxation	71.73		88.50	◎	287	Flusulfamide	104.08		78.83	◎
206	Isoxaflutole	86.12	◎	94.58	◎	288	Fluthiacet Methyl	85.93	◎	93.50	
207	Iprodion Metabolite	91.68				289	Flufenpyr Ethyl	75.75		93.30	◎
208	Imazalil	80.77	◎	78.17	◎	290	Fluridone	91.27	◎	96.08	◎
209	Imidacloprid	90.93	◎	90.83	◎	291	Fluroxypyr	81.65	◎	78.17	
210	Emamectin Benzoate B1a	68.10		85.08	◎	292	Prochloraz	90.45	◎	90.83	◎
211	Emamectin Benzoate B1b	71.57		103.17		293	Prosulfuron	94.33	◎	101.42	◎
212	Emamectin Nmethyloamino B1a	81.98		90.50	◎	294	Propaquizafop	89.80	◎	103.50	◎
213	Emamectin Nmethyloamino B1b	81.10				295	Propachlor	89.40	◎	95.83	◎
214	Emamectin Amino B1a	69.93		96.00	◎	296	Propoxycarbazon	91.72	◎	86.42	◎
215	Emamectin Amino B1b	85.07		105.42	◎	297	Propoxur	91.15	◎	89.83	◎
216	Emamectin Formylamino B1a	52.52				298	Bromoxynil	82.73	◎	59.75	
217	Emamectin Formylamino B1b					299	Hexaflumuron	103.05		101.42	
218	8,9-Z Emamectin B1a	67.30		108.25	◎	300	Benzenofenap	66.02		84.92	◎
219	Oryzalin	63.28				301	Boscalid	85.17		107.17	
220	Cartap	75.87		82.00		302	Fomesafen	91.08	◎	108.00	
221	Thiocyclam					303	Foramsulfuron	95.45	◎	92.58	◎
222	Carbaril	86.77	◎	96.50	◎	304	Forchlorfenuron	80.30		99.92	
223	Thiophanate	92.57	◎	101.58	◎	305	Mecarbam	80.32		103.08	◎
224	Carboflan	99.02	◎	110.18	◎	306	Mecoprop	82.10	◎	85.08	
225	Kresoxymethyl	67.00		81.00		307	Thiodicarb	13.77		4.88	
226	Clodinafop Acid	87.30	◎	107.75	◎	308	Metamitron	88.85	◎	95.75	◎
227	Clopyralid					309	Methiocarb	90.15	◎	101.58	◎
228	Clofencet			78.57		310	Mefenpyr Diethyl	92.10	◎	104.67	◎
229	Cloprop	82.92	◎	67.83		311	Lactofen	60.48		93.42	◎
230	Cloransulam-Methyl	92.53	◎	102.73	◎	312	Benthiavalicarb Isopropyl	91.70	◎	103.83	◎
231	Cyazofamid	76.07		77.33	◎	313	Cyflumetofen Metabolite B1	95.18	◎	81.83	◎
232	Diafenthiuron	70.53	◎	78.42	◎	314	Flubendiamide				
233	Dioxathion	71.90				315	Flonicamide	93.90	◎	97.83	◎
234	Cycloate	65.00		92.83	◎	316	Isoprocarb	87.87	◎	95.83	◎
235	Dichlorprop	90.83	◎	56.92		317	Ethiofencarb	88.53	◎	96.08	◎
236	Dicorvos	112.33	◎	104.67	◎	318	Carpropamide	68.40		91.42	
237	Naled					319	Cumyruon	76.18		101.92	◎
238	Difenzquat	95.33	◎	84.73	◎	320	Cyclosulfamuron	87.68	◎	95.25	◎
239	Cyflufenamid	73.37		91.90	◎	321	Daimuron	84.70	◎	91.08	◎
240	Diffufenican	90.45				322	Pirifenoxe	82.48	◎	104.08	◎
241	Difflubenzuron	88.90	◎	92.33	◎	323	Pirifenoxz	75.03		98.83	◎
242	Cyproconazol1	93.37	◎	91.50	◎	324	Furametpyr	89.13	◎	105.42	◎
243	Cyproconazol2	95.28	◎	113.75		325	Prohydrojasmon	98.50	◎		
244	Simeconazole	93.18	◎	97.18		326	Spiromesifen	87.38	◎	92.08	◎
245	Dimethirimol	92.28	◎	99.08	◎	327	Spiromesifen Metabolite	88.47	◎	93.75	◎
246	Spiroxamine1	87.22	◎	94.58	◎	328	Orysastrobins	91.40	◎	108.25	◎
247	Spiroxamine2	92.13	◎	94.00	◎	329	OrysastrobinsZ	91.22	◎	96.33	◎
248	Sulfosulfuron	90.92	◎	94.25	◎	330	Pyraclozil	91.70	◎	95.00	◎