

GC及びGC/MSによる食品中残留農薬の系統別分析法（第2報）

田村康宏, 高野伊知郎, 小林麻紀, 大塚健治,
富澤早苗, 立石恭也, 酒井奈穂子, 上條恭子,
影山百合子, 井部明広, 永山敏廣

Classified Analysis of Residual Pesticides in Food by GC and GC/MS (II)

Yasuhiro TAMURA, Ichiro TAKANO, Maki KOBAYASHI, Kenji OTSUKA,
Sanae TOMIZAWA, Yukinari TATEISHI, Naoko SAKAI, Kyoko KAMIJO,
Yuriko KAGEYAMA, Akihiro IBE and Toshihiro NAGAYAMA

GC及びGC/MSによる食品中残留農薬の系統別分析法（第2報*）

田村 康宏**, 高野 伊知郎**, 小林 麻紀**, 大塚 健治**,
富澤 早苗**, 立石 恭也**, 酒井 奈穂子**, 上條 恭子**,
影山 百合子**, 井部 明広**, 永山 敏廣**

Classified Analysis of Residual Pesticides in Food by GC and GC/MS (II)

Yasuhiro TAMURA **, Ichiro TAKANO **, Maki KOBAYASHI **, Kenji OTSUKA **,
Sanae TOMIZAWA **, Yukinari TATEISHI **, Naoko SAKAI **, Kyoko KAMIJO **,
Yuriko KAGEYAMA **, Akihiro IBE *** and Toshihiro NAGAYAMA **

Food products were analyzed to determine the levels of 99 pesticides, including 16 pesticides newly added to our previous analysis reported in 2006. Residual pesticides were extracted from food samples with acetone/n-hexane (2:3), followed by a cleanup procedure with the Envi-Carb/LC-NH₂ or Envi-Carb/LC-PSA column. Analysis was performed by combining GC-FPD, GC-FTD, GC-ECD and GC/MS(SIM). Our method showed the recovery rates of 16 pesticides spiked into strawberries, spinach and corn at 0.1 μg/g ranged from 55.0 to 184.7%. This method is useful for screening various foods for residual pesticides.

Keywords : 残留農薬 pesticide residue, 系統別分析 classified analysis, 食品 food, ガスクロマトグラフ GC, ガスクロマトグラフ/質量分析計 GC/MS

はじめに

平成 18 年 5 月より施行された残留農薬基準のポジティブリスト制度¹⁾に対応するため、著者らは従来より採用していた保持指標を用いたデュアルカラム・内部標準法²⁾による一斉分析法を改良し、選択的検出器及び質量分析計 (MS) を組み合わせた系統別分析法を開発し、昨年報告した³⁾。今回、測定対象農薬を追加するにあたり、測定法及び精製法について検討を加え、多くの農薬をより簡便に効率的に分析する手法を確立したので報告する。

実験方法

1. 試料

市販のイチゴ、ホウレンソウ及びトウモロコシを用いた。

2. 試薬

各農薬標準原液は和光純薬工業（株）、林純薬工業（株）及び関東化学（株）製の残留農薬試験用農薬標準品 99 種類を各々アセトンに溶解して 1,000 μg/ml の標準原液を調製した。

農薬標準混合溶液は和光純薬工業（株）農薬混合液 PL-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10 及び 11 を用い、これに

含有されていないイソカルボホス、ジクロロボス、フルシラゾール、メタラキシル及びボスカリドは各農薬標準原液を混合し、それぞれ *n*-ヘキサンで 0.4 μg/ml に調製した。

有機溶媒等は残留農薬試験用を用いた。

グラフアイトカーボン及び NH₂ 積層ミニカラムはスペルコ社製スペルクリン Envi-Carb/LC-NH₂（充填剤量 500 mg/500 mg）を用いた。

グラフアイトカーボン及び PSA 積層ミニカラムはスペルコ社製スペルクリン Envi-Carb/LC-PSA（充填剤量 500 mg/300 mg）を用いた。

3. 検討対象農薬

前報で検討した 83 種類の農薬に、検疫所等他の分析機関で検出例が報告された農薬のうち GC 及び GC/MS で測定可能なアセトクロール、アラクロール、ボスカリド、カルフェントラゾンエチル、クロロネブ、シフルトリン、フェンブコナゾール、フェノチオカルブ、イソカルボホス、イソプロカルブ、ピペロホス、プロメトリン、プロピザミド、プリメタニル及びトリアゾホスの計 16 種類を新たに加え、検討した。

*平成 17 年度 東京健安研七巻年報, 57, 173-178, 2006.

**東京都健康安全研究センター食品化学部残留物質研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

** Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

***東京都健康安全研究センター食品化学部食品成分研究科

4. 装置

1) 溶媒濃縮システム 東京理化機器 (株) 製 N-1000 型ロータリーエバポレーター, 同 CA-1110 型冷却水循環装置, 同 DPE2100 型溶媒回収装置, 同 NVC-1100 型真空制御装置, 同 DIVAC2.2L 型ダイアフラム型真空ポンプ, 同 PS-1000 型ウォーターバス及び Heto 社製 CT-110 型冷却トラップで構成されたもの

2) ガスクロマトグラフ (株) 島津製作所製 GC-2010 (検出器: 炎光光度型検出器 (FPD) 及びアルカリ熱イオン化検出器 (FTD)), Agilent 社製 6890 (検出器: 電子捕獲型検出器 (ECD))

3) ガスクロマトグラフ/質量分析計 Agilent 社製 6890/5973N

5. GC測定条件

1) GC-FPD カラム: DB-35 (J&W 社製), 長さ 30 m, 内径 0.53 mm, 膜厚 0.5 μ m, カラム温度: 50 $^{\circ}$ C (1min) - 20 $^{\circ}$ C/min - 150 $^{\circ}$ C - 6 $^{\circ}$ C/min - 300 $^{\circ}$ C (3min), 注入口温度: 250 $^{\circ}$ C, 検出器温度: 280 $^{\circ}$ C, 注入量: 2 μ L

2) GC-FTD カラム: DB-5 (J&W 社製), 長さ 30 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.25 μ m, カラム温度: ①に同じ, 注入口温度: 250 $^{\circ}$ C, 検出器温度: 300 $^{\circ}$ C, 注入量: 1 μ L

3) GC-ECD カラム: DB-XLB (J&W 社製), 長さ 30 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.1 μ m, カラム温度: 80 $^{\circ}$ C (1min) - 20 $^{\circ}$ C/min - 140 $^{\circ}$ C - 4 $^{\circ}$ C/min - 200 $^{\circ}$ C - 8 $^{\circ}$ C/min - 300 $^{\circ}$ C (5min), 注入口温度: 250 $^{\circ}$ C, 検出器温度: 300 $^{\circ}$ C, 注入量: 1 μ L

6. GC/MS測定条件

カラム及びカラム温度: 5.3) に同じ, 注入口温度: 250 $^{\circ}$ C, トランスファーライン温度: 290 $^{\circ}$ C, イオン化エネルギー: 70 eV, 注入量: 1 μ L

7. 分析方法

1) 試験溶液の調製 前報³⁾に従った. すなわち試料からアセトン・*n*-ヘキサン (2:3) 混液で抽出し, ジクロロメタン転溶及び Envi-Carb/LC-NH₂ ミニカラムによるクリーンアップを行い試験溶液を作製した. なお, 穀類及び豆類など油脂を多く含む試料の場合は抽出液 0.5 mL をあらかじめトルエン・アセトニトリル (1:3) 混液 10 mL でコンディショニングした Envi-Carb/LC-PSA ミニカラムに負荷し, トルエン・アセトニトリル (1:3) 混液 30 mL で溶出し, この溶出液を減圧濃縮後, 残さを *n*-ヘキサンに溶かし正確に 0.5 mL として試験溶液とした.

2) 測定

(1) 定性 試験溶液を 2 倍に希釈し, 有機リン系農薬は GC-FPD を用いて, また有機塩素系及び含窒素系農薬は GC-ECD 及び MS に試験溶液を同時注入して測定した. なお, ネギ類等 GC-FPD に感受性のある食品由来成分を多

く含む試料の場合は MS ですべての農薬を測定した. MS は 1 つの農薬につき 2 つのモニターイオンを設定し, また GC-ECD に感受性のない農薬等, 定性精度を高める必要のあるものはモニターイオンを 3 つに設定し測定した. タイムプログラムは有機リン系農薬測定用と有機塩素系及び含窒素系農薬測定用に分け, 測定農薬のグルーピングは感度等を考慮して, 1 グループの測定イオン数を 3 ~ 13 に設定した. Table 1 及び 2 に各農薬測定用のグルーピング, 保持時間及びモニターイオンを示した.

Table 1. Group in GC/MS(SIM), Retention Time and Monitor Ion for Organophosphorus Pesticides

Pesticide	Group	RT(min)	Monitor ion(<i>m/z</i>)		
Dichlorvos	1	4.15	109	185	
Ethoprophos	1	8.93	158	200	242
Dimethoate	2	11.05	87	125	93
Diazinon	2	11.90	179	304	199
Chlorpyrifos-methyl	3	14.19	286	288	
Tolclofos-methyl	3	14.44	265	267	
Parathion-methyl	3	14.68	263	109	125
Pirimiphos-methyl	4	15.16	290	276	305
Fenitrothion	4	15.67	277	260	125
Malathion	4	15.77	173	127	125
Chlorpyrifos	5	16.23	197	314	
Fenthion	5	16.32	278	169	125
Isocarbophos*	5	16.79	136	121	289
Chlorfenvinphos-1	6	17.56	267	323	
Phenthoate	6	18.17	274	246	125
Chlorfenvinphos-2	6	18.30	267	323	
Quinalphos	7	18.41	146	157	298
Methidathion	7	19.26	145	85	125
Prothiofos	8	20.13	309	267	
Profenofos	8	20.39	208	139	
Ethion	9	22.03	231	384	153
Triazophos*	9	23.01	161	257	285
Edifenphos	9	23.10	109	310	173
Piperophos*	10	24.93	320	140	122
EPN	10	25.06	157	169	185
Phosmet	10	25.13	160	161	
Phosalone	11	26.33	182	367	

* newly added pesticides

Table 2. Group in GC/MS(SIM), Retention Time and Monitor Ion for Organochlorine and Organonitrogen Pesticides

Pesticide	Group	RT(min)	Monitor ion(m/z)		
Chloroneb*	1	7.26	191	206	
Isoproc carb*	1	7.38	121	136	91
Chlorpropham	1	9.53	127	213	154
Trifluralin	1	9.68	306	264	
α-HCH	2	10.57	183	181	
Simazine	2	11.35	201	186	
Dicloran	2	11.48	206	176	
β-HCH	3	11.90	183	181	
Propyzamide*	3	11.96	173	175	
Pyrimethanil*	3	12.56	198	199	
γ-HCH	3	13.63	183	181	
Acetochlor*	3	14.05	146	162	
Vinclozolin	4	14.31	212	285	
Alachlor*	4	14.43	160	188	
δ-HCH	4	14.51	183	181	
Metalaxyl	4	14.89	206	249	220
Prometryn*	4	14.90	241	184	226
Aldrin	5	15.51	263	293	
Esprocarb	5	15.59	222	265	91
Thiobencarb	5	16.12	100	257	
Triadimefon	5	16.70	208	181	
Tetraconazole	5	17.42	336	338	
Pendimethalin	6	18.08	252	281	
Procymidone	6	18.68	96	283	
Triadimenol-1	6	18.85	112	168	
Phthalide	6	18.89	243	272	
Triadimenol-2	6	19.16	112	168	
Fenothiocarb*	6	19.49	72	160	
Paclobutrazole	6	19.62	236	125	
Pretilachlor	7	20.35	162	238	
Flutolanil	7	20.39	173	281	
Isoprothiolane	7	20.48	290	162	
Dieldrin	7	20.54	79	263	
Oxadiazone	7	20.56	175	258	
p,p'-DDE	8	20.70	246	318	
Buprofezin	8	20.79	172	105	
Kresoxim-methyl	9	21.03	116	206	
Carfentrazone-ethyl*	9	21.17	312	411	
Endrin	9	21.34	263	81	
Flusilazole	9	21.46	233	206	
Myclobutanil	10	21.63	179	150	
Chlorfenapyr	11	21.82	59	408	
o,p'-DDT	11	22.02	235	237	
Oxadixyl	11	22.60	163	105	
p,p'-DDD	11	22.60	235	237	
Mepronil	11	22.89	119	269	91
Benalaxyl*	11	23.01	148	206	204
Chlornitrofen	12	23.42	319	317	
Propiconazole-1	12	23.51	259	173	
p,p'-DDT	12	23.53	235	237	
Propiconazole-2	12	23.69	259	173	
Tebuconazole	12	24.19	125	250	127
Bifenthrin	13	24.82	181	166	

Table 2. Continued

Pesticide	Group	RT(min)	Monitor ion(m/z)	
Bromopropylate	13	24.88	341	333
Chlormethoxynil	13	24.96	266	268
Fenpropathrin	13	25.15	181	265
Tebufenpyrad	14	25.41	318	333
Cyhalothrin-1	14	26.21	181	197
Mefenacet	14	26.44	192	120
Cyhalothrin-2	14	26.50	181	197
Permethrin-1	15	27.50	183	163
Permethrin-2	15	27.72	183	163
Pyridaben	15	27.90	147	309
Cyfluthrin-1*	16	28.42	163	165
Cyfluthrin-2*	16	28.58	163	165
Cyfluthrin-3*	16	28.66	163	165
Cyfluthrin-4*	16	28.73	163	165
Halfenprox	16	28.84	263	265
Cypermethrin-1	16	28.86	181	165
Fenbuconazole*	16	28.87	129	198
Cypermethrin-2	16	29.04	181	165
Cypermethrin-3	16	29.08	181	165
Boscalid*	16	29.14	140	342 344
Cypermethrin-4	16	29.18	181	165
Flucythrinate-1	16	29.23	199	157
Flucythrinate-2	16	29.48	199	157
Fenvalerate-1	17	30.19	225	181
Fluvalinate-1	17	30.26	250	252
Fluvalinate-2	17	30.36	250	252
Fenvalerate-2	17	30.52	225	181
Difenoconazole-1	17	30.90	323	265
Difenoconazole-2	17	30.98	323	265

* newly added pesticides

(2) 確認 農薬を検出した試料は、その試験溶液を GC/MS のスキャンモードで測定し、標準品とマススペクトルを比較して確認した。また、この方法で確認できなかった場合は抽出液をフロリジルミニカラム又はシリカゲルミニカラム等で再度精製を行い、同様の操作で確認を行った。

(3) 定量 (2) で再精製を行った試験溶液を GC-FPD, FTD 及び ECD で定量する農薬の感度、チャート上での妨害ピークの出現状況等を考慮し、最も最適な検出器で測定し定量した。検量線は検出した農薬の標準原液を適宜希釈して作成し、ピーク面積による絶対検量線法で定量を行った。また、異性体がある農薬は各異性体の面積を合算して行った。定量限界はいずれの農薬も 0.01 µg/g であり、また 0.005 µg/g 以上でその農薬の残留が確認できた場合は痕跡値 (Trace) とした。

結果及び考察

1. 測定条件の検討

今回、前報の測定条件に 16 農薬を追加するにあたり、より簡便に測定できる方法を検討した。保持指標を用いたデュアルカラム・内部標準法は測定対象農薬の保持指標を

簡易にデータベース化でき、精度の高い定性を行うことができるが、測定対象農薬数が増えるほど測定ピークをデータベースと照らし合わせる作業が繁雑となる。一方、MSでの測定は、測定プログラムの作成は難しいが、プログラムを組み込んだ後は100を超える成分の定性を解析ソフトウェアを用いて自動的に行えるため、オペレーターの負担が少なくスクリーニングには非常に有用である。そこで、これまでGC-FPD及びFTDで測定していた有機リン系農薬を前報で報告したMSプログラムに組み込むことを試みた。しかし、保持時間が18～21分付近に検出する農薬が集中し、この時間近辺に検出するメチダチオンなどを組み込むことは困難であった。そこで有機リン系農薬は別のプログラムで測定することとした。MSですべての農薬を測定するには2つの分析プログラムを動かさなければならず分析時間が2倍かかることや、有機リン系農薬は選択性が極めて優れているGC-FPDで測定した方が同定が容易であることから、有機リン系農薬はGC-FPDで測定し、併行してその他の農薬はGC-ECD及びMSに試験溶液を同時注入して測定した。なお、GC-FPDでの測定が困難なネギやブロッコリー等の試料はMSで測定した。2台のシステムを併行して稼働させることにより、機器の効率的利用及び分析時間の短縮を図った。

2. 精製方法の検討

前報では精製カラムにEnvi-Carb/LC-NH₂を用いた方法を報告した。このカラムはGC/MSによる農薬等の一斉分析法⁴⁾に採用されるなど、残留農薬分析で広く用いられており、脂肪酸の除去に効果があるとされている。しかし、トウモロコシや大豆等では脂肪酸の除去が不十分な場合があった。PSAカラムは脂肪酸除去能がNH₂カラムより良

い⁵⁾とされている。そこでトウモロコシの抽出液を用いてNH₂カラムとPSAカラムの脂肪酸除去能を確認したところ、PSAカラムの方が優れていた。さらに、PSAカラムでの各農薬の溶出率を確認するため、標準溶液をこのカラムに負荷し、トルエン・アセトニトリル(1:3)混液20 mLで溶出したときのカラムからの農薬溶出率を求めたところ、NH₂カラムと比較し農薬のカラムへの吸着が強い傾向が見られ、フサライド等溶出率が大幅に減少する農薬があった。そこで溶出溶媒液量を30 mLに増量したところ、ほとんどの農薬で70%以上の溶出率が得られた。溶出溶媒であるトルエン・アセトニトリル(1:3)混液は揮発性が低く、濃縮操作に時間を要する。増量するとさらに時間がかかることから、脂肪酸を多く含むトウモロコシや大豆等の試料のみPSAカラムを使用することとした。

3. 添加回収試験

各農薬標準溶液をイチゴ、ホウレンソウ及びトウモロコシに添加し、添加回収試験を行った。添加量は試料中濃度が0.1 µg/gとなるよう添加した。また、イチゴ及びホウレンソウはNH₂カラムで、トウモロコシはPSAカラムで精製を行った。3回試行時における回収率の平均は55.0～184.7%であった(Table 3)。ホウレンソウでのボスカリド等若干回収率が低い場合が見られたが、概ね回収率は70%以上であった。

本試験法で正確な定量値を算出する場合は農薬が検出されていない同一試料で添加回収試験を行い、回収率が70～120%の範囲にあることを確認し、この範囲から回収率が外れる場合は、厚生労働省通知試験法⁴⁾等他の方法を用いて再試験を行う必要があると考える。

Table 3. Recoveries of newly added 16 Pesticides Spiked in Sample

Pesticide	Recovery (CV) (%) (n=3)		
	Strawberry	Spinach	Corn
Acetochlor	132.3(1.7)	112.2(5.1)	114.7(7.1)
Alachlor	123.2(1.6)	103.7(5.1)	109.6(6.5)
Benalaxyl	70.6(0.5)	59.4(5.1)	121.8(6.5)
Boscalid	70.7(5.0)	55.0(4.3)	105.6(2.2)
Carfentrazone-ethyl	71.4(1.4)	56.9(5.7)	129.3(8.5)
Chlorneb	93.7(4.6)	72.4(10.3)	75.6(14.9)
Cyfluthrin	91.5(8.7)	90.9(0.4)	129.8(7.3)
Fenbuconazole	97.9(10.1)	74.5(2.2)	181.3(4.6)
Fenothiocarb	73.9(1.9)	60.8(6.4)	120.3(7.9)
Isocarbophos	153.1(4.4)	118.8(6.3)	139.1(7.3)
Isoprocarb	118.7(12.2)	95.6(5.1)	98.8(11.8)
Piperophos	72.1(2.8)	58.7(5.8)	147.2(6.6)
Prometyn	129.5(1.4)	107.8(5.5)	104.2(6.1)
Propyzamide	125.9(2.6)	102.8(5.2)	106.0(6.8)
Pyrimethanil	134.7(0.6)	100.9(5.1)	95.9(6.0)
Triazophos	104.3(12.1)	76.8(9.1)	184.7(6.7)

ま と め

前報で報告した食品中に残留する有機リン系、有機塩素系農薬等の系統別分析法に測定対象農薬 16 種類を追加し、計 99 農薬の測定法を確立した。さらに精製法及び測定法について検討を加えた。精製は脂肪酸の多い試料において Envi-Carb/LC-PSA ミニカラムによるクリーンアップに改良したところ、脂肪酸の除去能が向上した。また有機リン系農薬の測定を GC-FPD と MS を併用する方法に改良したところ、ピーク同定作業の負担軽減が図られた。

本法による添加回収試験をイチゴ、ハウレンソウ及びトウモロコシで行ったところ概ね 70%以上の回収が得られた。

本法はスクリーニング試験法として適用でき、業務の迅速化及び効率化に有用であると考えられる。

文 献

- 1) 平成 17 年度厚生労働省告示第 497 号, 第 498 号及び第 499 号, 平成 17 年 11 月 29 日
- 2) 田村康宏, 永山敏廣, 小林麻紀他: 食衛誌, **39**, 225-232, 1998.
- 3) 田村康宏, 高野伊知郎, 小林麻紀他: 東京健安研センター年報, **57**, 173-178, 2006.
- 4) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知“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”平成 17 年 1 月 24 日食安発第 0124001 号(2005).
- 5) 日本農薬学会: 残留農薬分析知っておきたい問答あれこれ 改訂 2 版 2005, 80, 2005.