

[事例・資料]

食品中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価について

理化学課 食品担当 宮崎則文 大石寿 福田勝一郎 相浦那津美 山口陽子 大窪かおり

キーワード 残留農薬一斉試験法 妥当性評価 GC-MS/MS LC-MS/MS

1 はじめに

当センターでは、佐賀県食品衛生監視指導計画に基づき収去された農産物の残留農薬検査を通知試験法¹⁾により実施している。

平成 19 年に「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 22 年に「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」(以下「ガイドライン」という。)²⁾が通知され、平成 25 年 12 月 13 日以降、妥当性の確認が必須とされているところである。

当センターでも、農産物の種類ごとに妥当性評価を行い、残留農薬検査を実施してきたが、令和 2 年度に GC-MS/MS、LC-MS/MS の機器の更新を行ったことをきっかけに、従来実施してきた試験法を通知試験法に合わせ、GC-MS/MS で行っていた項目を LC-MS/MS で行うこととするために、新たに妥当性評価を実施したので、報告する。

2 検査方法

2-1 試料

事前に農薬が検出されないことを確認した、なす、ピーマン、ほうれんそう、みかん、いちごの 5 作物を試料とした。

2-2 検査項目

GC-MS/MS 一斉分析 26 項目、LC-MS/MS 一斉分析 83 項目、合計 109 項目について確認した。

2-3 標準品及び試薬等

標準品は富士フィルム和光純薬(株)社製の混合標準 PL-14-2 及び PL-15-1 を用いた他、富士フィルム和光純薬(株)社製の単品標準品を調製して使用した。

試薬は、残留農薬分析用、LC/MS 用又は試薬特級を用いた。

精製用カラムは、GL サイエンス社製 GL-Pak GC/NH₂(500mg/500mg/20mL)を使用した。

GC-MS/MS 用「疑似マトリックス AP(Alyte Protectants)」は、L-Gulono-1,4-lactone 及び D(-)-ソルビトールを水、アセトンに溶解して調製した。

2-4 分析方法

厚生労働省通知の「GC/MS による農薬等の一斉試験法(農産物)」及び「LC/MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物)」に従い実施した。

2-5 装置及び分析条件

(1) GC-MS/MS

① 装置

GC:Agilent 8890

MS:Agilent 7010B Triple Quad

② GC 条件

カラム:VF-5ms(内径 0.25mm×長さ 30m、膜厚 0.25 μ m)

キャリアガス:ヘリウム

注入口温度:250℃

昇温条件:70℃(2min)→25℃/min→150℃(0min)→3℃/min→200℃(0min)→8℃/min→310(5min)

注入量:1 μ L

注入方法:オートインジェクションによる 2 層サンドイッチ法(AP 使用)、パルスドスプリットレス注入

③ MS 条件

イオン化法:EI

イオン源温度:320℃

[事例・資料]

四重極温度:150℃

分析モード:MRM

Jet Clean セルフクリーニングイオン源

(2) LC-MS/MS

① 装置

LC:Agilent 1260、1290

MS:Agilent 6470 Triple Quad

② LC 条件

カラム:ZORBAX Eclipse Plus C18 Rapid Resolution HD

(内径 2.1mm×長さ 100mm、粒径 1.8 μm)

カラム温度:40℃

移動相:A:2mM 酢酸アンモニウム、B:メタノール

グラジエント条件 A:B(min) 90:10(0)→0:100(30)

流速:0.2mL/min

注入量:2 μL

③ MS 条件

イオン化法:AJS ESI(+)(-)

ネブライザー:N₂、50psi

乾燥ガス:N₂、300℃、10L/min

シースガス:N₂、300℃、12L/min

キャピラリー電圧:3500V

分析モード:MRM

2-6 試験溶液の調製

通知試験法に準じた試験法にて実施した(図1)。

[事例・資料]

フローチャート
果実、野菜

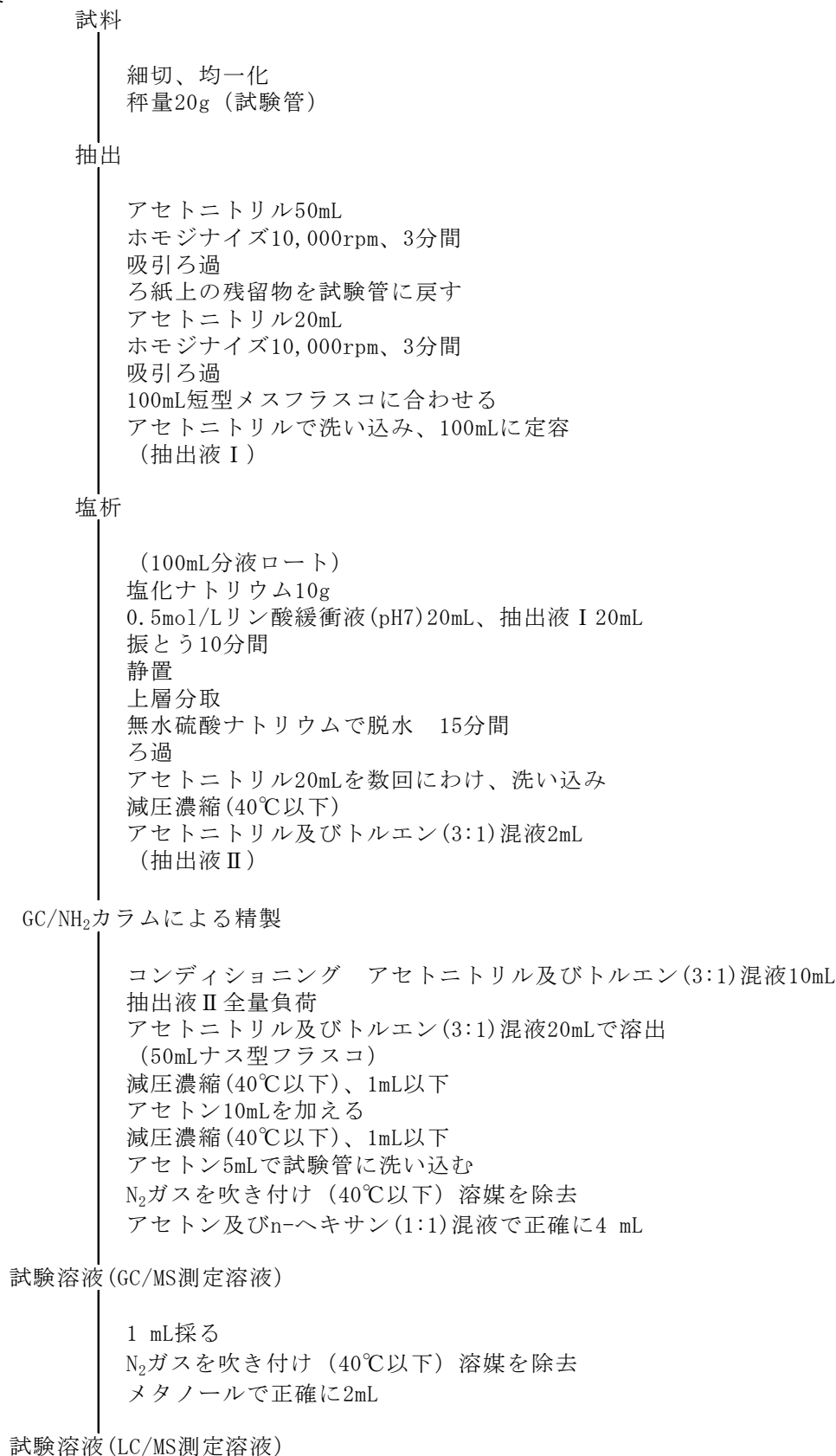


図1 試験溶液の調製フロー

[事例・資料]

3 妥当性評価の方法

実施者1名が1日1回(2併行)5日間実施、又は、実施者2名が1日1回(2併行)3日間実施する実験計画に基づき、0.01ppm及び0.05ppmの2濃度で添加回収試験を実施した。ガイドラインに従い、結果について選択性、真度・精度、定量限界の4項目を評価した。

4 結果

4-1 選択性

ブランク試料を試験法に従って試験し、定量を妨害するピークの有無を確認したところ、なす及びピーマンで3農薬、みかん及びいちごで1農薬が不適合であった。

4-2 真度・精度

添加濃度0.01ppm及び0.05ppmの結果をそれぞれガイドラインの目標値(表1)と比較したところ、なす、ピーマン及びみかんで90%以上、ほうれんそう及びいちごで85%以上の農薬が目標値に適合した。

なお、真度及び精度の何れかで不適合となった農薬は、GC-MS/MSの項目は表2、LC-MS/MSの項目は表3のとおりであった。

表1 真度及び精度の目標値

添加濃度 (ppm)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
0.01	70~120	25 >	30 >
0.05		15 >	20 >

表2 GC-MS/MS項目で真度・精度が不適合となった農薬の結果

	0.01ppm			0.05ppm		
	真度 (%)	併行 精度 RSD(%)	室内 精度 RSD(%)	真度 (%)	併行 精度 RSD(%)	室内 精度 RSD(%)
イソプロカルブ(いちご)	72	6	14	70	13	21
トリシクラゾール(ピーマン)	164	8	9	135	4	10
トリフルラリン(いちご)	68	11	32	69	16	27
ピロキロン(ピーマン)	169	17	17	115	2	6
フェノブカルブ(ほうれんそう)	72	70	75	83	6	9
フェノブカルブ(いちご)	69	4	16	74	12	19
フェンバレレート(ほうれんそう)	125	2	12	121	5	9
フルシトリネート(ほうれんそう)	135	1	36	113	4	7
フルトラニル(ピーマン)	327	5	6	170	1	5
ミクロブタニル(いちご)	190	6	6	111	3	9
レスメトリン(なす)	53	87	89	14	28	35
レスメトリン(ピーマン)	100	25	85	21	76	76

■ : 不適合

[事例・資料]

表3 LC-MS/MS項目で真度・精度が不適合となった農薬の結果

	0.01ppm			0.05ppm		
	真度 (%)	併行 精度 RSD(%)	室内 精度 RSD(%)	真度 (%)	併行 精度 RSD(%)	室内 精度 RSD(%)
アクリナトリン (ほうれんそう)	35	7	48	37	5	27
インダノファン (いちご)	85	2	14	85	1	21
エポキシコナゾール (いちご)	87	1	13	86	1	21
カズサホス (なす)	67	8	15	73	4	13
カズサホス (いちご)	66	6	19	70	14	14
シクロエート (なす)	41	38	59	51	21	25
シクロエート (ピーマン)	63	7	12	68	8	11
シクロエート (みかん)	48	12	13	52	14	15
シクロエート (いちご)	61	19	52	42	31	31
ジフェノコナゾール (みかん)	100	2	23	112	1	30
シラフルオフエン (なす)	117	10	19	111	4	36
シラフルオフエン (ピーマン)	55	11	67	65	7	52
シラフルオフエン (ほうれんそう)	34	8	47	40	7	36
シラフルオフエン (いちご)	58	14	41	75	8	34
スピノサド (ほうれんそう)	55	3	24	53	2	20
チアベンダゾール (なす)	46	12	15	61	5	9
チアベンダゾール (いちご)	62	18	19	82	2	5
ビフェントリン (なす)	96	6	13	114	3	20
ビフェントリン (ピーマン)	60	7	33	60	4	18
ビフェントリン (みかん)	67	2	31	75	5	22
ビフェントリン (ほうれんそう)	NA	NA	NA	12	8	43
フェンピロキシメート (ほうれんそう)	45	2	20	48	4	15
フルジオキシニル (なす)	56	14	14	64	11	11
フルジオキシニル (みかん)	69	6	7	76	5	9
フルバリネート (なす)	100	6	23	102	8	26
フルバリネート (みかん)	123	9	36	110	7	29
フルバリネート (ほうれんそう)	64	7	54	58	3	44
プロチオホス (ピーマン)	63	4	14	68	3	11
プロチオホス (ほうれんそう)	47	4	16	46	3	11
ペルメトリン(cis) (ほうれんそう)	NA	NA	NA	27	11	41
ペルメトリン(trans) (ほうれんそう)	50	12	35	52	9	17
メチダチオン (いちご)	65	1	6	69	1	4

: 不適合

NA: NDの結果があり、計算不可

4-3 定量限界

定量限界に対応する濃度(GC-MS/MSは10ppb、LC-MS/MSは5ppb)について、標準溶液から得られるピークのS/N比を確認したところ、目標値であるS/N \geq 10を満たさなかったものは、なす1農薬、ピーマン3農薬、ほうれんそう2農薬、みかん1農薬、いちご2農薬であった。

4-4 総合評価

評価項目の目標値を全て満たした作物毎の農薬数は表4のとおりである。GC-MS/MS及びLC-MS/MSの測定農薬のそれぞれの結果は、表5及び表6のとおりである。

[事例・資料]

表4 妥当性評価結果(評価項目の目標値を全て満たした農薬数)

対象作物	GC-MS/MS 測定農薬(26種)	LC-MS/MS 測定農薬(83種)
なす	24	76
ピーマン	22	78
ほうれんそう	21	75
みかん	24	77
いちご	20	73

表5 総合評価(GC-MS/MS 測定農薬)

分類		野菜			果実	
農産物		なす	ピーマン	ほうれんそう	みかん	いちご
測定項目						
1	イソプロカルブ	○	○	○	○	×
2	エスプロカルブ	○	○	○	○	○
3	エトフェンブロックス	○	○	○	○	○
4	オキサジアゾン	○	○	○	○	○
5	シペルメトリン	-	○	○	○	○
6	テフルトリン	○	○	○	○	○
7	トリシクラゾール	○	×	×	○	○
8	トリフルラリン	○	○	○	○	×
9	ピリプロキシフェン	○	○	○	○	○
10	ピロキロン	○	×	○	×	×
11	フェニトロチオン	○	○	○	○	○
12	フェノブカルブ	○	○	×	○	×
13	フェンバレレート	○	○	×	○	○
14	フサライド	○	○	○	○	○
15	フルシトリネート	○	○	×	○	○
16	フルトラニル	○	×	○	○	○
17	プロシミドン	○	○	○	○	○
18	プロパジン	○	○	○	○	○
19	プロパニル	○	○	○	○	○
20	プロピサミド	○	○	○	○	○
21	プロメトリン	○	○	○	○	○
22	ヘキサコナゾール	○	○	○	○	○
23	ペンディメタリン	○	○	○	○	○
24	ベンフレセート	○	○	○	○	○
25	ミクロブタニル	○	○	○	○	×
26	レスメトリン	×	×	×	×	×

○:適合 ×:不適合 -:実施なし

[事例・資料]

表6 総合評価(LC-MS/MS測定農薬)

分類 農産物		野菜			果実	
		なす	ピーマン	ほうれんそう	みかん	いちご
測定項目						
1	EPN	○	○	○	○	○
2	アクリナトリン	○	○	×	×	×
3	アセタミブリド	○	○	○	○	○
4	アゾキシストロピン	○	○	○	○	○
5	アトラジン	○	○	○	○	○
6	イソキサチオン	○	○	○	○	○
7	イマザリル	○	○	○	○	○
8	イミダクロプリド	○	○	○	○	○
9	インダノファン	○	○	○	○	×
10	エトキサゾール	○	○	○	○	○
11	エボキシコナゾール	○	○	○	○	×
12	オキサジクロメホン	○	○	○	○	○
13	オキサミル	○	○	○	○	○
14	オキシカルボキシ	○	○	○	○	○
15	カズサホス	×	○	○	○	×
16	カルバリル	○	○	○	○	○
17	カルプロパミド	○	○	○	○	○
18	クミルロン	○	○	○	○	○
19	クレソキシムメチル	○	○	○	○	○
20	クロチアニジン	○	○	○	○	○
21	クロルピリホス	○	○	○	○	○
22	クロルピリホスメチル	○	○	○	○	○
23	クロルフェナビル	○	×	○	○	○
24	クロロクスロン	○	○	○	○	○
25	シアゾファミド	○	○	○	○	○
26	ジウロン	○	○	○	○	○
27	ジエトフェンカルブ	○	○	○	○	○
28	シクロエート	×	×	○	×	×
29	ジクロシメット	○	○	○	○	○
30	ジフェノコナゾール	○	○	○	×	○
31	ジフルベンズロン	○	○	○	○	×
32	シプロコナゾール	○	○	○	○	○
33	ジメトモルフ	○	○	○	○	○
34	シラフルオフェン	×	×	×	○	×
35	スピノサド	○	○	×	○	○
36	ダイアジノン	○	○	○	○	○
37	ダイムロン	○	○	○	○	○
38	チアクロプリド	○	○	○	○	○
39	チアベンダゾール	×	○	○	○	×
40	チアメトキサム	○	○	○	○	○
41	チオベンカルブ	○	○	○	○	○
42	テトラコナゾール	○	○	○	○	○
43	テブチウロン	○	○	○	○	○
44	テブフェノジド	○	○	○	○	○
45	テブフェンピラド	○	○	○	○	○

○:適合 ×:不適合

[事例・資料]

表6 総合評価(LC-MS/MS測定農薬)(続き)

分類 農産物		野菜			果実	
		なす	ピーマン	ほうれんそう	みかん	いちご
測定項目						
46	テフルベンズロン	○	○	○	○	○
47	トリチコナゾール	○	○	○	○	○
48	トリフルムロン	○	○	○	○	○
49	トリフロキシストロピン	○	○	○	○	○
50	トルフェンピラド	○	○	○	○	○
51	ノバルロン	○	○	○	○	○
52	ビフェントリン	×	×	×	×	○
53	ビリダベン	○	○	○	○	○
54	ビリミカーブ	○	○	○	○	○
55	ビリミホスメチル	○	○	○	○	○
56	フェナリモル	○	○	○	○	○
57	フェンアミドン	○	○	○	○	○
58	フェントエート	○	○	○	○	○
59	フェンピロキシメート	○	○	×	○	○
60	フェンブコナゾール	○	○	○	○	○
61	フェンプロパトリン	○	○	○	○	○
62	ブプロフェジン	○	○	○	○	○
63	フルジオキシニル	×	○	○	×	○
64	フルバリネート	×	○	×	×	×
65	フルフェノクスロン	○	○	○	○	○
66	フルリドン	○	○	○	○	○
67	プロチオホス	○	×	×	○	○
68	プロバキザホップ	○	○	○	○	○
69	ヘキサフルムロン	○	○	○	○	○
70	ヘキシチアゾクス	○	○	○	○	○
71	ペルメトリン	○	○	×	○	○
72	ペンシクロン	○	○	○	○	○
73	ベンダイオカルブ	○	○	○	○	○
74	ペントキサゾン	○	○	○	○	○
75	ホサロン	○	○	○	○	○
76	ボスカリド	○	○	○	○	○
77	ホスチアゼート	○	○	○	○	○
78	マラチオン	○	○	○	○	○
79	メタバンスチアズロン	○	○	○	○	○
80	メチダチオン	○	○	○	○	×
81	モノリニューロン	○	○	○	○	○
82	リニューロン	○	○	○	○	○
83	ルフェヌロン	○	○	○	○	○

○:適合 ×:不適合

5 まとめ

機器の更新に伴い、通知試験法により実施している残留農薬試験法の妥当性を評価した結果、109農薬中、93～100農薬が目標値に適合した。

今後は、他の作物について継続して妥当性評価を実施する予定である。

【文献】

- 1)厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知,平成17年1月24日,食安発第0124001号
- 2)厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知,平成22年12月24日,食安発1224第1号