

残留農薬分析業務における分析法の検討

LC-MS/MS を用いた野菜・果実類中の残留農薬の同時分析法の開発

佐々木秀幸*1, 守山智章*2, 山田篤司*3, 鈴木徹也*4, 白井裕一*5, 野村哲也*5

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) を用いた野菜・果実類中の 7 種の残留農薬 (クロルフルアズロン, ピラフルフェンエチル, ピリダリル, ピリミジフェン, フルアジナム, プロスルホカルブおよびペンディメタリン) の同時分析法を検討した。検討には, こまつな, たまねぎ, ばれいしょおよびみかんを用いた。試料からアセトンで抽出を行い, n-ヘキサンに転溶後, シリカゲルミニカラムおよびグラファイトカーボンミニカラムで精製し, LC-MS/MS で測定した。3 試験室で厚生労働省通知の「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」に基づき分析法の妥当性評価を行ったところ, すべての試験室において, ばれいしょにおけるピラフルフェンエチルを除くすべての組み合わせについて, 妥当性評価の性能パラメータがガイドラインに示された目標値等に適合していることを確認した。

Keywords : 残留農薬, 野菜・果実類, 妥当性評価, 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計

緒 言

独立行政法人農林水産消費安全技術センター農薬実態調査課 (以下, センター) では, 農林水産省の指示に基づき, 国内産農産物における農薬の使用状況および残留状況について調査を行っている。農産物に使用される農薬は, 作物や栽培地域によって異なることから, 調査においては, 多くの農薬を効率的に分析することが重要となっている。

そこで, 更なる調査対象農薬の拡大と分析の効率化を図るため, センターで分析対象としていなかった 4 農薬および個別に分析を行っている 3 農薬の計 7 農薬を同時に分析する方法 (以下, 同時分析法) を新たに開発することとした。

検討対象農薬に適用される, 厚生労働省通知¹⁾による個別試験法の抽出方法および精製方法における共通点を参考にして分析法を構築した。開発した同時分析法について, 「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」^{2, 3)} (以下, ガイドライン) に基づき, 試験室毎に妥当性評価を行ったのでその結果を報告する。

材料および方法

1. 試験室

同時分析法の開発は農薬検査部農薬実態調査課 (以下, 小平) で実施した。

妥当性評価は小平, 横浜事務所農薬実態調査課 (以下, 横浜), 神戸センター農薬実態調査課 (以下, 神戸) の 3 試験室で実施した。

2. 対象農薬

2.1. センターで分析対象としていなかった農薬 (新規分析)

ピラフルフェンエチル, ピリミジフェン, フルアジナムおよびプロスルホカルブ

2.2. 個別に分析を行っている農薬 (分析法変更)

クロルフルアズロン, ピリダリルおよびペンディメタリン

3. 試料および添加濃度

3.1. 試料

こまつな, たまねぎ, ばれいしょおよびみかんとし, 3 試験室で同一のものを用いた。

*1 独立行政法人農林水産消費安全技術センター農薬検査部

*2 独立行政法人農林水産消費安全技術センター農薬検査部, 現 札幌センター

*3 独立行政法人農林水産消費安全技術センター横浜事務所, 現 表示監視部

*4 独立行政法人農林水産消費安全技術センター横浜事務所

*5 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

3.2. 添加濃度

一律基準である 0.01 mg/kg (以下, 低濃度) およびその 10 倍にあたる 0.1 mg/kg (以下, 高濃度) の 2 濃度とした。

4. 試薬および器具

4.1. 標準品

農薬標準品：ピラフルフェンエチルは林純薬工業製, ピリミジフェン, フルアジナムおよびプロスルホカルブは和光純薬工業製の, 残留農薬試験用を使用した。各農薬標準品をアセトニトリルで溶解し 500 µg/mL の標準原液を調製した。クロロフルアズロン, ピリダリルおよびペンディメタリンは林純薬工業製の標準溶液 (各 1000 µg/mL) を使用した。

混合標準液：各標準原液および各標準溶液を混合し 20 µg/mL のアセトニトリル溶液となるように調製した。

添加回収試験用標準液：混合標準液をアセトンに溶媒置換し, アセトンで適宜希釈して調製した。

検量線用標準液：混合標準液をアセトニトリルで適宜希釈して調製した。

4.2. 試薬

アセトン, n-ヘキサン, 酢酸エチル, トルエン, 塩化ナトリウムおよび無水硫酸ナトリウムは残留農薬試験用を用いた。アセトニトリルおよびメタノールは液体クロマトグラフ質量分析計用を用いた。1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液は高速液体クロマトグラフ用を, ケイソウ土はセライト 545 を使用した。水は超純水製造装置 (Merck Millipore 製) で製造した超純水または蒸留水 (高速液体クロマトグラフ用) を使用した。

4.3. ろ紙

桐山ロート用ろ紙 No.5A-60

4.4. 固相抽出ミニカラム

シリカゲルミニカラムは, Waters 製 Sep-Pak Vac Silica (500 mg) を, グラファイトカーボンミニカラムは, Sigma-Aldrich 製 Supelclean ENVI-Carb (250 mg) を使用した。シリカゲルミニカラムはあらかじめ n-ヘキサン 10 mL で, グラファイトカーボンミニカラムは酢酸エチル・n-ヘキサン (2:8)

溶液 10 mL でコンディショニングしたものを用いた。

5. 装置

5.1. ホモジナイザー

日本精機製作所製 エースホモジナイザー

5.2. 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計

LC 部：Waters 製 ACQUITY UPLC System (小平, 神戸, 横浜)

MS 部：Waters 製 Premier XE (小平, 神戸)
：Waters 製 ACQUITY TQD (横浜)

6. 前処理方法

図 1 の分析法フローチャートに従い行った。

添加回収試験は, ホモジナイザー用容器に採取した分析試料に添加回収試験用標準液を添加し 30 分放置した後に抽出を開始した。

6.1. 抽出

試料 20.0 g にアセトン 100 mL を加え, 3 分間ホモジナイズした後吸引ろ過した。残留物にアセトン 50 mL を加え 3 分間ホモジナイズ後吸引ろ過し, ろ液を合わせアセトンで 200 mL に定容した。この溶液から 5 mL 分取し, 10 %塩化ナトリウム溶液 20 mL および n-ヘキサン 20 mL を加えて 5 分間振とうしたのち, 水層を分離除去した。n-ヘキサン層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し, ろ別したのち, 溶媒を 40 °C 以下で留去した。残留物に n-ヘキサン 2 mL を加えて溶解したものを抽出溶液とした。

6.2. 精製

あらかじめ n-ヘキサン 10 mL でコンディショニングしたシリカゲルミニカラムに抽出溶液を負荷し, n-ヘキサン 10 mL で洗浄した。試料を負荷したシリカゲルミニカラムの下に, あらかじめ酢酸エチル・n-ヘキサン (2:8) 溶液 10 mL でコンディショニングしたグラファイトカーボンミニカラムを連結し, 酢酸エチル・n-ヘキサン (2:8) 溶液 15 mL で溶出を行い, 溶出液を採取した。次いでシリカゲルミニカラムを取り外し, グラファイトカーボンミニカラムから酢酸エチル・トルエン (8:2) 溶液 25 mL で溶出を行い, 先の溶出液と合わせた。溶出液の溶媒を 40 °C 以下で 1 mL

以下に濃縮後、アセトン 10 mL を加え 40 °C 以下で留去し、残留物をアセトニトリル 5 mL で溶解したものを試験溶液とした。

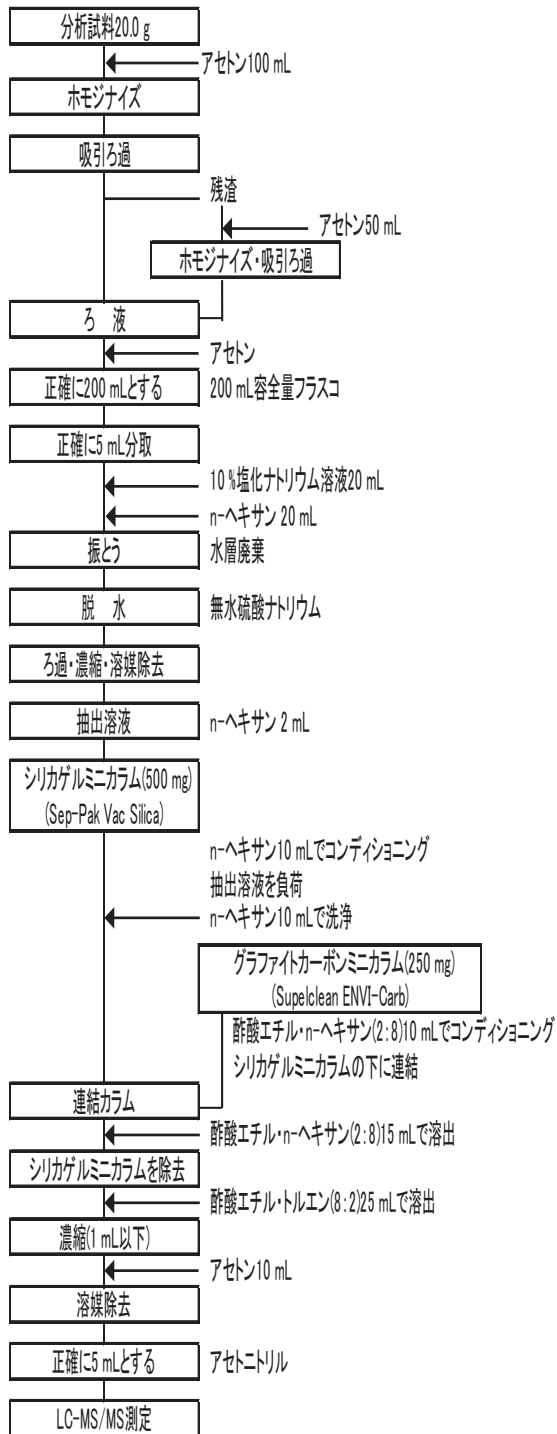


図1. 分析法フローチャート

7. 測定条件

LC-MS/MS による測定イオンおよび測定条件は、表 1 から表 3 のとおりとした。

表 1. LC-MS/MS 測定イオン

| 農薬名 | 測定モード | モニターイオン (定量) m/z | モニターイオン (定性) m/z |
|-------------------------|-------|------------------------|------------------------|
| クロルフルアス [®] ロン | — | 540 > 520 | 538 > 518 |
| ピラフルフェンエチル | + | 413 > 339 | 413 > 289 |
| ピリタ [®] リル | + | 490 > 109 | 490 > 164 |
| ピリミジフェン | + | 378 > 184 | 378 > 150 |
| フルアジ [®] ナム | — | 463 > 416 | 463 > 398 |
| プロスルホカ [®] ルブ | + | 252 > 91 | 252 > 128 |
| ベンチ [®] イメタリン | + | 282 > 212 | 282 > 194 |

表 2. LC-MS/MS 測定条件

| | |
|---------|--|
| カラム | : Wako 製 Wakopak Ultra C18-2 2.1 mm i. d. ×100 mm, 2 μm |
| 流量 | : 0.353 mL/min |
| カラム温度 | : 40 °C |
| 注入量 | : 2 μL |
| 移動相 | : A 液 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 B 液 5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液 (グラジエント条件: 表 3) |
| イオン化法 | : エレクトロスプレーイオン化法 (ESI+, ESI-) |
| 測定法 | : 多重反応モニタリング法 (MRM) |
| イオン源温度 | : 120 °C |
| 脱溶媒ガス温度 | : 400 °C |
| 脱溶媒ガス流量 | : 800 L/hr |

表 3. グラジエント条件

| 時間 (min) | A 液:B 液 (比) | → | A 液:B 液 (比) |
|----------|-------------|---|-------------|
| 0 ~ 0.29 | 85:15 | → | 60:40 |
| ~ 1.23 | | | 60:40 |
| ~ 2.18 | 60:40 | → | 50:50 |
| ~ 2.93 | 50:50 | → | 45:55 |
| ~ 6.52 | 45:55 | → | 5:95 |
| ~ 10 | | | 5:95 |

8. 妥当性評価

8.1. 枝分かかれ試験

ガイドラインに示された実験例に基づき、各試験室において低濃度および高濃度の添加回収試験をそれぞれ 2 併行で、異なる実施日または実施者で 5 回繰り返した。

8.2. 選択性の確認

検討対象農薬を含まない試料 (以下、ブランク試料) の試験溶液を 6. 前処理方法に従い調製し、LC-MS/MS で測定して定量を妨害するピークの有無を確認した。

8.3. 検量線の直線性の確認

測定対象農薬を混合した検量線用標準溶液 (0.0003, 0.0005, 0.001, 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05 および 0.1 µg/mL) を LC-MS/MS に注入し、得られたクロマトグラムのピーク面積から検量線を作成した。各検量線について、相関係数 (r) により直線性を確認した。

8.4. 検出限界および定量限界の確認

定量限界の目標値を一律基準濃度である 0.01 mg/kg，検出限界の目標値を 0.003 mg/kg とした。標準液を測定しピークの高さ (S) とピークの近傍のノイズ (N) の高さから S/N 比 3 相当の濃度を求めて試料中濃度に換算したものを検出限界とした。同様に S/N 比 10 相当の濃度を求めて試料中濃度に換算したものを定量限界とした。検出限界および定量限界の算出式を以下に示す。

・検出限界 = $3 \times (\text{ノイズの最大と最小の幅} \times 1/2) \times \text{標準液濃度} / \text{標準液ピーク高さ} \times 1 / \text{試験法における濃縮倍率}$

・定量限界 = $10 \times (\text{ノイズの最大と最小の幅} \times 1/2) \times \text{標準液濃度} / \text{標準液ピーク高さ} \times 1 / \text{試験法における濃縮倍率}$

8.5. 真度および精度の確認

ガイドラインに従い、低濃度は真度 (回収率) が 70~120%，併行精度が 25%未満、室内精度が 30%未満、高濃度は真度が 70~120%，併行精度が 15%未満、室内精度が 20%未満を目標値 (表 4 参照) とした。

表 4. ガイドラインに示された真度および精度の目標値

| 濃度 (ppm) | 真度 (%) | 併行精度 (RSD %) | 室内精度 (RSD %) |
|-----------------|--------|--------------|--------------|
| ≤0.001 | 70~120 | 30 > | 35 > |
| 0.001 < ~ ≤0.01 | 70~120 | 25 > | 30 > |
| 0.01 < ~ ≤0.1 | 70~120 | 15 > | 20 > |
| 0.1 < | 70~120 | 10 > | 15 > |

結果および考察

9. 抽出法および精製法の検討

9.1. 抽出方法の検討

検討対象農薬に適用される個別試験法では、抽出にはアセトン、転溶には n-ヘキサンおよび 10% 塩化ナトリウム溶液を使用している。このことから、本検討でも抽出にはアセトン、転溶には n-ヘキサンおよび 10% 塩化ナトリウム溶液を使用した。

転溶について、液々分配による回収率の検討を行った。10% 塩化ナトリウム溶液 20 mL にアセトンで調製した 0.1 µg/mL の標準溶液 0.5 mL およびアセトン 4.5 mL を添加し n-ヘキサン 20 mL で振とう抽出して得られた回収率と、残った溶液をさらに n-ヘキサン 10 mL で振とう抽出して得られた回収率を比較した。その結果、表 5 に示すとおり 1 回目の抽出で 94%以上の農薬を抽出することができた。一方、2 回目の抽出では最大でも 0.3%とほとんど回収がみられなかった。このため、省力化の観点と合わせて、2 回目以降の振とう抽出は省略可能と判断した。

表 5. 振とう回数毎の n-ヘキサンへの回収率 (%)

| 農薬名 | 回収率 (%) n=1 | | 合計 |
|------------|-------------|--------|-------|
| | 20 mL | 10 mL | |
| | (1 回目) | (2 回目) | |
| クロルフルアズロン | 98.2 | 0.3 | 98.5 |
| ピラフルフェンエチル | 96.9 | 0.0 | 96.9 |
| ピリダリル | 99.6 | 0.0 | 99.6 |
| ピリミジフェン | 101.9 | 0.3 | 102.2 |
| フルアジナム | 94.1 | 0.3 | 94.4 |
| プロスルホカルブ | 98.5 | 0.0 | 98.5 |
| ペンディメタリン | 101.2 | 0.0 | 101.2 |

9.2. 精製方法の検討

9.2.1. シリカゲルミニカラム

検討対象農薬に適用される個別試験法では、精製カラムはピリダリルを除き順相吸着系のシリカゲルまたはフロリジルを使用している。そのため、精製法については、保持力が強く、また、汎用性のあるシリカゲルミニカラムを用いて検討を行った。

シリカゲルミニカラムに n-ヘキサンで調製した 0.025 µg/mL の標準溶液 2 mL を負荷し、n-ヘキサン 10 mL で洗浄したのち、混合割合を変えた酢酸エチル・n-ヘキサン溶液を用いて農薬を溶出

させ、溶出画分毎の農薬の溶出状況を比較した。結果を表 6 から表 8 に示す。

酢酸エチル・n-ヘキサン (1:19) 溶液では、ピラフルフェンエチル、ピリミジフェンおよびクロルフルアズロンの溶出率が 0~2 % と殆ど溶出せず、酢酸エチル・n-ヘキサン (1:9) 溶液では改善するものの 25 mL 流しても 80 % 未満に留まった。一方、酢酸エチル・n-ヘキサン (2:8) 溶液では全ての農薬が溶出量 15 mL までで 87~102 % 溶出した。以上の結果から、n-ヘキサン 2 mL で負荷し、n-ヘキサン 10 mL で洗浄後に酢酸エチル・n-ヘキサン (2:8) 溶液 15 mL で溶出を行うこととした。

表 6. 酢酸エチルおよび n-ヘキサン (1 : 19) 溶液を用いた場合のシリカゲルミニカラムからの溶出状況

| 農薬名 | 回収率 (%) n=1 | | | | 合計 |
|------------|-----------------|------------------------|---------|----------|-------|
| | ヘキサン | 酢酸エチルおよび n-ヘキサン (1:19) | | | |
| | 2 mL (負荷)+10 mL | 0-5 mL | 5-15 mL | 15-25 mL | |
| クロルフルアズロン | 0 | 0 | 0.3 | 1.8 | 2.1 |
| ピラフルフェンエチル | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| ピリダリル | 0 | 102.9 | 0 | 0 | 102.9 |
| ピリミジフェン | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| フルアジナム | 0 | 95.1 | 3.6 | 0 | 98.7 |
| プロスルホカルブ | 0 | 99.1 | 0 | 0 | 99.1 |
| ペンディメタリン | 0 | 97.2 | 0 | 0 | 97.2 |

表 7. 酢酸エチルおよび n-ヘキサン (1 : 9) 溶液を用いた場合のシリカゲルミニカラムからの溶出状況

| 農薬名 | 回収率 (%) n=1 | | | | 合計 |
|------------|-----------------|-----------------------|---------|----------|-------|
| | ヘキサン | 酢酸エチルおよび n-ヘキサン (1:9) | | | |
| | 2 mL (負荷)+10 mL | 0-5 mL | 5-15 mL | 15-25 mL | |
| クロルフルアズロン | 0 | 0 | 57.8 | 19.1 | 76.9 |
| ピラフルフェンエチル | 0 | 0 | 23.0 | 55.8 | 78.8 |
| ピリダリル | 0 | 102.9 | 0 | 0 | 102.9 |
| ピリミジフェン | 0 | 0 | 20.4 | 51.5 | 71.9 |
| フルアジナム | 0 | 102.7 | 0 | 0 | 102.7 |
| プロスルホカルブ | 0 | 101.1 | 0 | 0 | 101.1 |
| ペンディメタリン | 0 | 102.7 | 0 | 0 | 102.7 |

表 8. 酢酸エチルおよび n-ヘキサン (2 : 8) 溶液を用いた場合のシリカゲルミニカラムからの溶出状況

| 農薬名 | 回収率 (%) n=1 | | | | 合計 |
|------------|-----------------|-----------------------|---------|----------|-------|
| | ヘキサン | 酢酸エチルおよび n-ヘキサン (2:8) | | | |
| | 2 mL (負荷)+10 mL | 0-5 mL | 5-15 mL | 15-25 mL | |
| クロルフルアズロン | 0 | 49.2 | 37.6 | 0 | 86.8 |
| ピラフルフェンエチル | 0 | 45.4 | 49.3 | 0 | 94.7 |
| ピリダリル | 0 | 98.2 | 0.6 | 0 | 98.8 |
| ピリミジフェン | 0 | 40.1 | 47.4 | 0.3 | 87.7 |
| フルアジナム | 0 | 90.1 | 0.5 | 0 | 90.6 |
| プロスルホカルブ | 0 | 102.0 | 0.4 | 0 | 102.4 |
| ペンディメタリン | 0 | 99.5 | 0 | 0 | 99.5 |

9.2.2. グラファイトカーボンミニカラムによる追加精製

シリカゲルミニカラムによる精製を試料に適用したところ、みかんのクロロフルアズロンの回収率が70%を下回る傾向が見られた。

原因として、みかんの試験溶液が着色していたことから、残存した試料マトリックスによりLC-MS/MS測定でイオン化抑制が生じて回収率が低下した可能性が考えられた。また、試験溶液中の色素による測定装置への影響も懸念されることから、シリカゲルミニカラムでは精製が不十分と考えられた。

このため、色素の除去に有効とされるグラファイトカーボンミニカラムを用いて精製を追加する検討を行った。なお、グラファイトカーボンミニカラムから平面構造を持つクロロフルアズロン、ピリダリルおよびピリミジフェンを溶出するため、トルエンを用いることとした。

シリカゲルミニカラムとグラファイトカーボンミニカラムの連結カラムおよびシリカゲルミ

ニカラム除去後のグラファイトカーボンミニカラムからの農薬の溶出状況を表9に示した。

表9より、酢酸エチル・n-ヘキサン(2:8)溶液15mLで連結カラムから溶出後、シリカゲルミニカラムを除去して酢酸エチル・トルエン(4:1)溶液20mLで溶出すると全ての農薬が良好に溶出した。カラムのロット差などを考慮し、溶出を確実にを行うため、酢酸エチル・トルエン(4:1)溶液は25mLで溶出することとした。

グラファイトカーボンミニカラムによる精製を追加し、こまつな、たまねぎ、ばれいしょおよびみかんを用いて添加回収試験を行ったところ、みかんのクロロフルアズロンの回収率が2点併行でそれぞれ101%、115%となり改善した。また、全ての試料で無色透明な試験溶液が得られた。

以上の結果から、シリカゲルミニカラムの下にグラファイトカーボンミニカラムを連結して精製を行うこととした。

表9. 連結カラムおよびシリカゲルミニカラム除去後のグラファイトカーボンミニカラムからの溶出状況

| 農薬名 | 回収率 (%) n=1 | | | | | 合計 |
|------------|------------------------|--------------------------|---------|--------------------|----------|------|
| | ヘキサン 2 mL(負荷)+10 mL | 酢酸エチルおよび n-ヘキサン (2:8) | | 酢酸エチルおよびトルエン (4:1) | | |
| | | 0-15 mL | 0-15 mL | 15-20 mL | 20-25 mL | |
| クロロフルアズロン | - | 0 | 84.0 | 1.4 | 0 | 85.4 |
| ピラフルフェンエチル | - | 86.8 | 4.0 | 0 | 0 | 90.8 |
| ピリダリル | - | 0 | 95.8 | 0.2 | 0 | 96.0 |
| ピリミジフェン | - | 4.6 | 82.7 | 0.4 | 0.1 | 87.8 |
| フルアジナム | - | 98.3 | 0.7 | 0 | 0 | 99.0 |
| プロスルホカルブ | - | 88.3 | 0.4 | 0 | 0 | 88.7 |
| ベンディメタリン | - | 84.1 | 0 | 0 | 0 | 84.1 |

10. 妥当性評価結果

10.1. 選択性

ブランク試料について分析を行ったところ、いずれの農薬においても定量の妨害となるピークは認められず、選択性に問題がないことが確認された。

10.2. 検量線の直線性

各試験室で作成した検量線の相関係数(r)は表10に示すとおりであり、すべての農薬について、0.0003~0.1 µg/mLの範囲で直線性(相関係数(r)が0.995以上)が確認された。

表10. 直線性の範囲と相関係数

| 農薬名 | 直線性の 範囲 (µg/mL) | 相関係数 (r) | | |
|------------|-----------------------|-----------|--------|--------|
| | | 小平 | 横浜 | 神戸 |
| | | クロルフルアズロン | 0.9998 | 0.9998 |
| ピラフルフェンエチル | 0.9999 | 1.0000 | 1.0000 | |
| ピリダリル | 0.9999 | 1.0000 | 0.9999 | |
| ピリミジフェン | 1.0000 | 0.9999 | 0.9999 | |
| フルアジナム | 1.0000 | 0.9993 | 0.9999 | |
| プロスルホカルブ | 0.9999 | 1.0000 | 0.9999 | |
| ベンディメタリン | 0.9999 | 0.9999 | 0.9996 | |

10.3. 検出限界および定量限界

各試験室の検出限界および定量限界の結果は表 11 に示すとおりであり、いずれも目標値を満たしていた。

10.4. 真度および精度

各試験室の真度（回収率）および精度（併行精度および室内精度）の結果を表 12 から表 15 に示す。

ばれいしよのピラフルフェンエチルを除き、すべての農薬で目標値を満たした。ピラフルフェンエチルがばれいしよで殆ど回収されなかった原因は、ばれいしよ以外では真度が 70%以上となったことから、ばれいしよ特有の成分の影響によ

り、前処理工程において分解等で損失した可能性が考えられた。

10.5. 室間再現性（参考）

すべての結果（3 試験室それぞれにおいて 1 回当たり 2 併行、異なる実施日または異なる実施者で 5 回繰り返しの枝分かれ試験）から求めた真度（回収率）および精度（併行精度および室間精度）を表 16 から表 19 に示す。この結果についてもばれいしよのピラフルフェンエチルを除いたすべての農薬でガイドラインの目標値を満たしていた。

表 11. 検出限界および定量限界

| 農薬名 | 検出限界 (mg/kg) | | | 定量限界 (mg/kg) | | |
|------------|--------------|---------|---------|--------------|---------|---------|
| | 小平 | 横浜 | 神戸 | 小平 | 横浜 | 神戸 |
| | 目標値 | 0.003 | 0.003 | 0.003 | 0.01 | 0.01 |
| クロルフルアズロン | 0.00045 | 0.00020 | 0.00027 | 0.00150 | 0.00067 | 0.00089 |
| ピラフルフェンエチル | 0.00027 | 0.00018 | 0.00008 | 0.00089 | 0.00059 | 0.00027 |
| ピリダリル | 0.00070 | 0.00081 | 0.00075 | 0.00232 | 0.00271 | 0.00251 |
| ピリミジフェン | 0.00011 | 0.00003 | 0.00004 | 0.00036 | 0.00011 | 0.00014 |
| フルアジナム | 0.00035 | 0.00013 | 0.00006 | 0.00118 | 0.00042 | 0.00021 |
| プロスルホカルブ | 0.00036 | 0.00010 | 0.00006 | 0.00120 | 0.00032 | 0.00019 |
| ペンディメタリン | 0.00094 | 0.00025 | 0.00028 | 0.00313 | 0.00083 | 0.00093 |

表 12. 3 試験室の回収率、併行精度および室内精度（こまつな）

| 農薬名 | | 回収率 (%) n=10 | | 併行精度 (RSD %) | | 室内精度 (RSD %) | |
|------------|----|--------------|--------|--------------|------|--------------|------|
| | | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 |
| | | 目標値 | 70~120 | 70~120 | < 25 | < 15 | < 30 |
| クロルフルアズロン | 小平 | 95.7 | 90.5 | 8.6 | 6.5 | 10.6 | 9.1 |
| | 横浜 | 96.8 | 92.7 | 14.3 | 4.9 | 15.3 | 6.7 |
| | 神戸 | 93.0 | 92.7 | 11.4 | 5.8 | 11.4 | 9.4 |
| ピラフルフェンエチル | 小平 | 88.5 | 84.2 | 6.3 | 5.4 | 6.3 | 7.7 |
| | 横浜 | 94.5 | 90.3 | 3.1 | 0.5 | 3.1 | 0.7 |
| | 神戸 | 95.4 | 92.7 | 3.9 | 3.4 | 5.2 | 6.5 |
| ピリダリル | 小平 | 95.7 | 89.5 | 5.4 | 7.2 | 10.4 | 9.2 |
| | 横浜 | 92.7 | 88.1 | 8.0 | 5.8 | 11.0 | 9.1 |
| | 神戸 | 93.1 | 97.5 | 8.5 | 3.1 | 8.5 | 3.9 |
| ピリミジフェン | 小平 | 88.7 | 86.1 | 7.5 | 6.1 | 7.5 | 6.9 |
| | 横浜 | 90.3 | 87.9 | 1.1 | 0.9 | 1.8 | 4.2 |
| | 神戸 | 85.7 | 87.7 | 8.2 | 5.9 | 9.9 | 7.7 |
| フルアジナム | 小平 | 91.8 | 83.9 | 11.6 | 3.0 | 12.8 | 6.5 |
| | 横浜 | 91.4 | 88.7 | 4.3 | 1.5 | 4.3 | 4.3 |
| | 神戸 | 92.7 | 91.5 | 5.1 | 3.9 | 5.1 | 7.3 |
| プロスルホカルブ | 小平 | 97.9 | 92.4 | 7.7 | 4.5 | 7.7 | 5.6 |
| | 横浜 | 98.3 | 94.6 | 1.6 | 1.7 | 2.8 | 3.9 |
| | 神戸 | 99.6 | 101.0 | 13.9 | 3.1 | 13.9 | 8.2 |
| ペンディメタリン | 小平 | 102.1 | 87.9 | 4.9 | 6.8 | 7.5 | 9.6 |
| | 横浜 | 101.8 | 95.3 | 6.6 | 2.6 | 6.6 | 4.9 |
| | 神戸 | 95.9 | 92.3 | 4.6 | 5.2 | 6.4 | 5.2 |

表 13. 3 試験室の回収率, 併行精度および室内精度 (たまねぎ)

| 農薬名 | | 回収率 (%) n=10 | | 併行精度 (RSD %) | | 室内精度 (RSD %) | |
|------------|----|--------------|--------|--------------|------|--------------|------|
| | | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 |
| | | 目標値 | 70~120 | 70~120 | < 25 | < 15 | < 30 |
| クロルフルアズロン | 小平 | 92.6 | 93.4 | 13.4 | 6.4 | 13.4 | 10.4 |
| | 横浜 | 99.7 | 95.6 | 11.7 | 3.5 | 16.3 | 3.5 |
| | 神戸 | 91.8 | 92.4 | 5.9 | 2.5 | 6.6 | 5.7 |
| ピラフルフェンエチル | 小平 | 90.9 | 91.8 | 5.7 | 5.2 | 8.7 | 5.3 |
| | 横浜 | 93.9 | 95.6 | 6.5 | 1.7 | 8.1 | 2.6 |
| | 神戸 | 93.3 | 88.7 | 3.2 | 3.0 | 4.7 | 3.5 |
| ピリダリル | 小平 | 94.6 | 94.5 | 5.1 | 6.2 | 5.1 | 8.9 |
| | 横浜 | 99.2 | 99.6 | 4.5 | 2.0 | 7.1 | 4.4 |
| | 神戸 | 94.7 | 92.0 | 5.2 | 2.9 | 5.9 | 7.3 |
| ピリミジフェン | 小平 | 88.7 | 88.5 | 3.8 | 5.2 | 6.6 | 6.8 |
| | 横浜 | 85.7 | 85.4 | 4.2 | 1.6 | 5.6 | 1.7 |
| | 神戸 | 83.2 | 81.0 | 4.5 | 5.2 | 7.2 | 8.0 |
| フルアジナム | 小平 | 96.3 | 97.1 | 4.1 | 4.9 | 4.1 | 8.7 |
| | 横浜 | 95.6 | 94.8 | 3.4 | 1.8 | 4.5 | 2.0 |
| | 神戸 | 87.1 | 87.4 | 9.1 | 5.3 | 10.7 | 6.8 |
| プロスルホカルブ | 小平 | 97.3 | 94.8 | 3.6 | 4.8 | 6.3 | 7.3 |
| | 横浜 | 94.0 | 93.6 | 3.2 | 2.3 | 3.7 | 2.9 |
| | 神戸 | 86.2 | 91.3 | 8.3 | 7.4 | 12.3 | 9.6 |
| ペンディメタリン | 小平 | 96.8 | 96.7 | 9.2 | 6.8 | 15.2 | 13.9 |
| | 横浜 | 96.0 | 93.4 | 14.9 | 2.6 | 14.9 | 3.2 |
| | 神戸 | 89.9 | 88.2 | 5.9 | 7.5 | 11.5 | 7.5 |

表 14. 3 試験室の回収率, 併行精度および室内精度 (ばれいしょ)

| 農薬名 | | 回収率 (%) n=10 | | 併行精度 (RSD %) | | 室内精度 (RSD %) | |
|------------|----|--------------|--------|--------------|------|--------------|------|
| | | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 |
| | | 目標値 | 70~120 | 70~120 | < 25 | < 15 | < 30 |
| クロルフルアズロン | 小平 | 95.2 | 93.7 | 8.4 | 4.7 | 8.4 | 6.8 |
| | 横浜 | 96.7 | 92.9 | 11.1 | 4.7 | 12.1 | 4.7 |
| | 神戸 | 92.1 | 94.1 | 13.2 | 6.6 | 13.5 | 7.7 |
| ピラフルフェンエチル | 小平 | 0 | 0 | - | - | - | - |
| | 横浜 | 0 | 2.1 | - | - | - | - |
| | 神戸 | 0 | 0 | - | - | - | - |
| ピリダリル | 小平 | 94.3 | 95.7 | 2.7 | 5.9 | 6.4 | 5.9 |
| | 横浜 | 92.7 | 96.7 | 8.0 | 1.2 | 8.2 | 3.3 |
| | 神戸 | 93.9 | 90.9 | 6.6 | 3.2 | 9.6 | 10.3 |
| ピリミジフェン | 小平 | 84.0 | 85.8 | 4.9 | 6.4 | 7.3 | 6.4 |
| | 横浜 | 81.9 | 86.2 | 7.1 | 1.2 | 7.1 | 1.7 |
| | 神戸 | 87.5 | 82.3 | 7.2 | 3.6 | 7.2 | 10.5 |
| フルアジナム | 小平 | 91.6 | 92.1 | 3.4 | 6.3 | 5.2 | 6.3 |
| | 横浜 | 81.7 | 92.2 | 9.0 | 3.6 | 9.1 | 4.2 |
| | 神戸 | 90.9 | 87.9 | 12.4 | 3.0 | 12.4 | 10.5 |
| プロスルホカルブ | 小平 | 90.4 | 88.4 | 4.9 | 5.1 | 5.2 | 6.2 |
| | 横浜 | 84.9 | 91.5 | 6.1 | 1.7 | 6.4 | 3.1 |
| | 神戸 | 90.0 | 85.7 | 7.6 | 4.9 | 14.9 | 10.9 |
| ペンディメタリン | 小平 | 95.3 | 92.1 | 13.5 | 6.7 | 13.5 | 9.4 |
| | 横浜 | 94.6 | 88.0 | 7.8 | 9.3 | 10.2 | 9.3 |
| | 神戸 | 85.6 | 85.6 | 8.1 | 3.2 | 12.8 | 10.2 |

*検出限界未満の結果は「0」として計算した。精度は算出せず「-」と表記した。

表 15. 3 試験室の回収率、併行精度および室内精度（みかん）

| 農薬名 | | 回収率 (%) n=10 | | 併行精度 (RSD %) | | 室内精度 (RSD %) | |
|------------|----|--------------|--------|--------------|------|--------------|------|
| | | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 |
| | | 目標値 | 70~120 | 70~120 | < 25 | < 15 | < 30 |
| クロルフルアズロン | 小平 | 98.8 | 96.3 | 8.8 | 4.5 | 11.0 | 4.7 |
| | 横浜 | 83.3 | 91.2 | 8.9 | 3.3 | 8.9 | 9.4 |
| | 神戸 | 103.1 | 88.7 | 9.7 | 2.5 | 12.0 | 4.3 |
| ピラフルフェンエチル | 小平 | 93.3 | 94.7 | 3.6 | 3.4 | 6.9 | 3.4 |
| | 横浜 | 89.3 | 90.5 | 2.8 | 4.0 | 8.7 | 8.6 |
| | 神戸 | 97.0 | 89.7 | 4.7 | 2.3 | 5.5 | 8.2 |
| ピリダリル | 小平 | 97.9 | 91.9 | 4.6 | 5.0 | 7.8 | 8.6 |
| | 横浜 | 94.9 | 91.3 | 5.8 | 3.6 | 8.1 | 6.6 |
| | 神戸 | 99.3 | 90.9 | 3.0 | 4.5 | 3.7 | 5.8 |
| ピリミジフェン | 小平 | 90.8 | 89.3 | 4.7 | 2.9 | 10.4 | 4.4 |
| | 横浜 | 82.6 | 84.5 | 3.8 | 3.7 | 7.8 | 8.4 |
| | 神戸 | 89.2 | 83.5 | 3.1 | 2.0 | 7.2 | 7.0 |
| フルアジナム | 小平 | 96.2 | 94.2 | 5.0 | 1.7 | 5.4 | 5.2 |
| | 横浜 | 86.3 | 88.3 | 5.5 | 4.2 | 9.0 | 7.8 |
| | 神戸 | 96.9 | 89.5 | 7.4 | 2.3 | 7.4 | 8.6 |
| プロスルホカルブ | 小平 | 99.7 | 93.2 | 6.3 | 2.3 | 10.5 | 4.7 |
| | 横浜 | 90.0 | 89.7 | 4.1 | 3.3 | 8.0 | 7.1 |
| | 神戸 | 102.5 | 91.2 | 8.8 | 1.5 | 8.8 | 3.0 |
| ペンディメタリン | 小平 | 96.7 | 90.3 | 5.1 | 5.2 | 11.5 | 10.0 |
| | 横浜 | 97.2 | 89.4 | 6.1 | 4.6 | 6.3 | 8.8 |
| | 神戸 | 96.0 | 90.7 | 6.9 | 4.3 | 11.3 | 7.4 |

表 16. 3 試験室の回収率、併行精度および室間精度（こまつな）

| 農薬名 | | 回収率 (%) n=30 | | 併行精度 (RSD %) | | 室間精度 (RSD %) | |
|------------|--|--------------|--------|--------------|------|--------------|------|
| | | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 |
| | | 目標値 | 70~120 | 70~120 | < 25 | < 15 | < 30 |
| クロルフルアズロン | | 95.2 | 92.0 | 11.7 | 5.8 | 11.7 | 8.1 |
| ピラフルフェンエチル | | 92.8 | 89.1 | 4.6 | 3.6 | 5.7 | 6.8 |
| ピリダリル | | 93.9 | 91.7 | 7.4 | 5.5 | 9.2 | 8.6 |
| ピリミジフェン | | 88.2 | 87.2 | 6.4 | 4.9 | 7.2 | 6.2 |
| フルアジナム | | 92.0 | 88.0 | 7.7 | 3.0 | 8.0 | 6.8 |
| プロスルホカルブ | | 98.6 | 96.0 | 9.3 | 3.3 | 9.3 | 7.1 |
| ペンディメタリン | | 99.9 | 91.8 | 5.5 | 5.0 | 7.1 | 7.2 |

表 17. 3 試験室の回収率、併行精度および室間精度（たまねぎ）

| 農薬名 | | 回収率 (%) n=30 | | 併行精度 (RSD %) | | 室間精度 (RSD %) | |
|------------|--|--------------|--------|--------------|------|--------------|------|
| | | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 |
| | | 目標値 | 70~120 | 70~120 | < 25 | < 15 | < 30 |
| クロルフルアズロン | | 94.7 | 93.8 | 10.9 | 4.4 | 12.9 | 6.8 |
| ピラフルフェンエチル | | 92.7 | 92.0 | 5.3 | 3.6 | 7.1 | 4.9 |
| ピリダリル | | 96.2 | 95.4 | 4.9 | 4.1 | 6.2 | 7.4 |
| ピリミジフェン | | 85.9 | 84.9 | 4.2 | 4.3 | 6.7 | 6.9 |
| フルアジナム | | 93.0 | 93.1 | 5.8 | 4.3 | 8.0 | 7.7 |
| プロスルホカルブ | | 92.5 | 93.2 | 5.3 | 5.2 | 9.1 | 6.9 |
| ペンディメタリン | | 94.2 | 92.8 | 10.8 | 6.0 | 12.7 | 9.7 |

表 18. 3 試験室の回収率、併行精度および室間精度（ばれいしょ）

| 農薬名 | | 回収率 (%) n=30 | | 併行精度 (RSD %) | | 室間精度 (RSD %) | |
|------------|--|--------------|--------|--------------|------|--------------|------|
| | | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 |
| | | 目標値 | 70~120 | 70~120 | < 25 | < 15 | < 30 |
| クロルフルアズロン | | 94.7 | 93.6 | 11.0 | 5.4 | 11.2 | 6.2 |
| ピラフルフェンエチル | | 0 | 0.7 | - | - | - | - |
| ピリダリル | | 93.7 | 94.4 | 6.2 | 4.0 | 7.7 | 7.1 |
| ピリミジフェン | | 84.4 | 84.8 | 6.5 | 4.3 | 7.2 | 6.7 |
| フルアジナム | | 88.1 | 90.7 | 9.0 | 4.6 | 9.9 | 7.2 |
| プロスルホカルブ | | 88.4 | 88.5 | 6.3 | 4.2 | 9.8 | 7.4 |
| ペンディメタリン | | 91.8 | 88.6 | 10.3 | 6.9 | 11.9 | 9.4 |

*検出限界未満の結果は「0」として計算した。精度は算出せず「-」と表記した。

表 19. 3 試験室の回収率、併行精度および室間精度（みかん）

| 農薬名 | 回収率 (%) n=30 | | 併行精度 (RSD %) | | 室間精度 (RSD %) | |
|------------|--------------|--------|--------------|------|--------------|------|
| | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 | 低濃度 | 高濃度 |
| | 目標値 | 70~120 | 70~120 | < 25 | < 15 | < 30 |
| クロルフルアズロン | 95.1 | 92.1 | 9.2 | 3.6 | 13.8 | 7.1 |
| ピラフルフェンエチル | 93.2 | 91.6 | 3.8 | 3.3 | 7.5 | 6.9 |
| ピリダリル | 97.4 | 91.4 | 4.6 | 4.4 | 6.7 | 6.7 |
| ピリミジフェン | 87.5 | 85.8 | 4.0 | 3.0 | 9.1 | 7.0 |
| フルアジナム | 93.1 | 90.7 | 6.1 | 2.9 | 8.3 | 7.4 |
| プロスルホカルブ | 97.4 | 91.4 | 6.9 | 2.5 | 10.4 | 5.1 |
| ペンディメタリン | 96.6 | 90.1 | 6.1 | 4.7 | 9.4 | 8.3 |

11. まとめ

分析対象農薬の拡大と効率化を図るため、7 農薬の同時分析法の開発を試み、アセトンで抽出後、n-ヘキサンに転溶し、シリカゲルミニカラムおよびグラファイトカーボンミニカラムで精製を行い、LC-MS/MS で測定する分析法を構築した。開発した同時分析法について、4 種類の農産物を用いて、ガイドラインに基づき単一試験室による妥当性評価を行った。この結果、7 農薬のうちピラフルフェンエチルを除いて、すべての試験室で妥当性評価の性能パラメータがそれぞれの目標値等に適合していることを確認した。なお、ピラフルフェンエチルは、4 作物のうち、ばれいしょのみ殆ど回収されず目標値を満たさなかった。原因として、ばれいしょ特有の成分により、分解等で損失した可能性が考えられた。

以上の結果から、ピラフルフェンエチルを除く 6 農薬（クロルフルアズロン、ピリダリル、ピリミジフェン、フルアジナム、プロスルホカルブおよびペンディメタリン）について、すべての試験室で同時分析法の導入が可能であり、分析対象農薬の拡大と効率化が図られると考えられた。

参考文献

- 1) 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について、平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号。
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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 日付け食安発 1224 第 1 号。
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長通知：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関する質疑応答集 (Q&A) について、平成 23 年 12 月 8 日付け食安基発 1208 第 1 号。