

汎用マトリックス添加標準溶液を活用した野菜類および果実類中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価

誌名	食品衛生学雑誌
ISSN	00156426
著者名	福井,直樹 高取,聡 山口,聡子 北川,陽子 吉光,真人 小阪田,正和 梶村,計志 尾花,裕孝
発行元	[日本食品衛生学会]
巻/号	56巻4号
掲載ページ	p. 178-184
発行年月	2015年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



妥当性評価

汎用マトリックス添加標準溶液を活用した野菜類および
果実類中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価

(平成27年3月19日受理)

福井直樹* 高取 聡 山口聡子 北川陽子
吉光真人 小阪田正和 梶村計志 尾花裕孝Validation Study on a Multi-Residue Method for Determination of Pesticide Residues
in Vegetables and Fruits by using General Matrix Standard SolutionsNaoki FUKUI*, Satoshi TAKATORI, Satoko YAMAGUCHI, Yoko KITAGAWA, Masato YOSHIMITSU,
Masakazu OSAKADA, Keiji KAJIMURA and Hiroataka OBANAOsaka Prefectural Institute of Public Health: 1-3-69 Nakamichi,
Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan; *Corresponding author

Quantitative methods using the matrix-matched standard solutions approach are widely used for multi-residue pesticide determination by GC-MS/MS to deal with the issue of matrix effects. However, preparing matrix-matched standard solutions in analyses of many kinds of samples is very time-consuming. In order to solve this problem, a method that employs general matrix standard solutions has been developed using polyethylene glycol (PEG), extract of vegetables-fruit juice (VFJm) and triphenyl phosphate (named the PEG-VFJm method). Here, a validation study for 168 pesticides was performed on three kinds of samples [potato, spinach and apple] at concentrations of 0.010 and 0.050 $\mu\text{g/g}$. In these three commodities, 144 to 158 pesticides satisfied the required criteria using the matrix-matched method and 129 to 149 pesticides satisfied the same criteria using the PEG-VFJm method. Our results suggest that application of general matrix standard solutions would enable rapid and effective analyses of pesticides.

(Received March 19, 2015)

Key words: 妥当性評価試験 method validation study; 残留農薬 pesticide residue; 一斉分析法 multi-residue method; ガスクロマトグラフィー/タンデム型質量分析計 GC-MS/MS; マトリックス効果 matrix effect

付録資料: 付録資料 (付録表S1, S2, S3およびS4) はJ-STAGEの日本食品衛生学雑誌 (<http://dx.doi.org/10.3358/shokueishi.56.178>) で閲覧できる。

緒 言

食品中に残留する農薬等に関する試験法について、平成25年12月13日までに「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」*1 (以下、ガイドライン) に則り評価を行うことが必要となった。筆者らは、QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safety) 法を参考に迅速な残留農薬一斉分析法を独自に開発し、ばれいしょ、ほうれんそうおよびりんご等の代

表的な野菜および果実類についてLC-MS/MSによる評価を行い既報¹⁾で報告した。今回はLC-MS/MSの測定では十分に感度が得られない農薬のうち、GC-MS/MSの測定に適した農薬を対象に妥当性評価を行った。

GC-MS/MSによる測定において、マトリックス効果の制御は不可欠である^{2)~7)}。マトリックス効果の制御法としては、マトリックスマッチング法が最も単純であり効果的である。本報では農薬を含まない試験品と同じ食品から調製した試験溶液 (濃縮ブランク試験溶液) をマトリックスとして標準溶液に添加したマトリックスマッチング標準溶液を使用する。しかし、多種類の試料をまとめて分析する場合、食品の種類ごとにマトリックスマッチング標準溶液を調製する必要があるため非効率である。多岐に及ぶ食品の分析に適用するためには、特定の食品に対象が限定さ

* 連絡先 fukui@iph.pref.osaka.jp

大阪府立公衆衛生研究所: 〒537-0025 大阪市東成区中道1-3-69

*1 「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日付け食安発第1224第1号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知)

れない方法, 例えば, ポリエチレングリコールあるいは内標準等を活用した方法でマトリックス効果の制御法を確立しておく必要がある^{2), 3), 5), 7)~12)}. そこで, 新たにマトリックスマッチング標準溶液に代用可能であり, かつ多種類の試料に共用できる汎用的な標準溶液 (汎用マトリックス添加標準溶液) について, ポリエチレングリコール, 野菜果実ジュースから得たブランク試験溶液 (Vegetable-Fruit Juice matrix; VFJm) および内標準 (トリフェニルリン酸) を活用し検討した. VFJm は, 市販の野菜果実ジュースから調製するため, 単純な食品由来マトリックスと異なり, 一定の品質で再調製が可能であることが特長である.

汎用マトリックス添加標準溶液について検討した結果, ポリエチレングリコールおよびVFJmを併用し, 内標準による補正を加えて定量した場合 (PEG-VFJm併用法) において, マトリックスマッチング法に最も近いマトリックス効果の制御効率が認められた. そこでマトリックスマッチング法およびPEG-VFJm併用法により妥当性評価を行った.

本論文では, ばれいしょ, ほうれんそうおよびりんごを対象にマトリックス効果制御法について検討した結果に加えて, マトリックスマッチング法およびPEG-VFJm併用法の双方を活用して妥当性評価を行った結果についても報告する.

実験方法

1. 試薬

GC-MS/MSで高感度に検出できる168成分の農薬を対象とした (Table S1). 標準品は, 和光純薬工業(株) (大阪), 関東化学(株) (東京), 林純薬工業(株) (大阪), Riedel-de-Haën (Seelze, Germany) およびDr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany) 製の残留農薬分析用標準品もしくはその同等品を用いた. 各農薬の標準品を1,000 µg/mLになるようにアセトンで溶解し標準原液とした. 混合標準溶液は, 各標準原液をすべて混合し, 2.5 µg/mLになるようにアセトンで調製した. これをアセトン-ヘキサン混合溶液 (1:1) で適宜希釈して, 検量線用混合標準溶液 (0.020~0.40 µg/mL) を作成した. アセトニトリル, アセトン, トルエン, ヘキサン, 塩化ナトリウム, クエン酸三ナトリウム二水和物, クエン酸二ナトリウムセスキ水和物, 無水硫酸マグネシウムは既報¹⁾ に準じた. トリフェニルリン酸 (一級) およびポリエチレングリコール 300 (一級, 以下PEG) は, 和光純薬工業(株)製を使用した. グラファイトカーボン (GCB)/PSA積層カラムは既報¹⁾ に準じた. 内標準には, トリフェニルリン酸を用い, これを0.2 µg/mLになるようアセトン-ヘキサン混合溶液で溶解した (内標準溶液). PEGは, 0.2% (w/v) になるようアセトン-ヘキサン混合溶液で溶解した (PEG溶液).

2. 試料

ばれいしょ, ほうれんそうおよびりんごを評価対象とした. ガイドラインの例示を参考に, デンプンを多く含む食

品としてばれいしょを, 葉緑素を多く含む食品としてほうれんそうを, 果実類としてりんごを選定した. これらは大阪府内および兵庫県内で入手した. 試料調製は既報¹⁾ に準じた.

野菜果実ジュースは, にんじんおよびりんごを主要原料とした野菜20種類および果実5種類を含む市販飲料を用いた. 原料の詳細はTable S2に示した.

3. 器具および機器

GC: 7890A (Agilent社製)

MS/MS: 7000B (Agilent社製)

50 mL PP製遠心管, フードプロセッサ, 高速ホモジナイザーおよび遠心分離装置は既報¹⁾ に準じた.

4. 測定条件

分析カラムはDB-5 ms (30 m×0.25 mm, 0.25 µm; Agilent社製) を使用した. 農薬の同定にあたり, クロルピリホスメチルの保持時間を13.443分にロックしたりテンションタイムロッキング機能を活用した. カラム昇温条件は次のとおりとした. 50°C (1 min)→25°C/min→125°C→10°C/min→310°C (10 min). 注入口温度250°C, トランスファーライン温度280°Cとした.

MS/MSのイオン化法はEI (70 eV) で行い, 各農薬のMS/MS条件はTable S1に示した. イオン源温度は280°C, 注入量は1 µLとした.

5. 実験操作

5.1 試験溶液の調製

試験溶液の調製は, 既報に準じた¹⁾. 試料10.0 gにアセトニトリルを正確に20 mL加え, 高速ホモジナイザーにより1分間抽出した. 抽出後, 塩析および脱水を経て得られた有機層をGCB/PSA積層カラムに正確に8 mL注入し, アセトニトリル-トルエン混合溶液30 mLで溶出した. カラム通過液および溶出液を回収して減圧濃縮乾固し, アセトン-ヘキサン混合溶液を正確に2 mL加えて溶解した (試験溶液; 1 mL当たり試料2 g相当量).

5.2 濃縮ブランク試験溶液 (1 mL当たり試料4 g相当量) の調製

マトリックスマッチング法の検量線に使用される濃縮ブランク試験溶液は, 各食品のブランク試料から5.1項に従って調製した. なお, 減圧濃縮乾固後にアセトン-ヘキサン混合溶液を正確に1 mL加えて, 1 mL当たり試料4 g相当量とした.

5.3 濃縮VFJm (1 mL当たり試料4 g相当量) の調製

濃縮VFJmは, 野菜果実ジュースから5.1項に従って調製した. 5.2項と同様に減圧濃縮乾固後にアセトン-ヘキサン混合溶液を正確に1 mL加えて, 1 mL当たり試料4 g相当量とした.

5.4 GC-MS/MS測定用試験溶液の調製

試験溶液0.2 mL, PEG溶液0.1 mLおよび内標準溶液0.1 mLを正確に混合し, GC-MS/MS測定用試験溶液 (1 mL当たり試料1 g相当量) とした.

Table 1. Various standard solutions and test solutions for study of matrix effects in GC-MS/MS analysis

Model solution	Remarks	Concentrations of components					Comparable sample solution	
		Pesticides ($\mu\text{g/mL}$)	Internal standard [#] ($\mu\text{g/mL}$)	PEG [§] (%)	Sample extract* (g/mL)	VFJm** (g/mL)		
Sample solution	α	PEG (-)	0.05	0.05	None	1	—	—
	β	PEG (+)			0.05	1	—	—
Standard solution	a	PEG (-), VFJm (-)	0.05	0.05	None	—	None	α
	b	PEG (+), VFJm (-)			0.05	—	None	β
	c	PEG (-), VFJm (+)			None	—	1	α
	d	PEG (+), VFJm (+)			0.05	—	1	β

[#]: Triphenyl phosphate (TPP)

[§]: Polyethylene glycol 300

*: Extract obtained from blank samples (potato, spinach and apple).

** : Extract obtained from blank sample of vegetable-fruit juice.

6. マトリックス効果および制御の検討

GC-MS測定時のマトリックス効果は注入口やカラム等の活性点が原因と考えられている^{2)~7)}。そこで、抽出および精製操作などにおける誤差要因を避けるために、農薬を含まない食品から調製した濃縮ブランク試験溶液に、添加濃度が0.050 $\mu\text{g/g}$ になるよう既知量の農薬を後添加した模擬試験溶液を調製した。効果の比較は、マトリックスマッチングにおいて各農薬 (0.050 $\mu\text{g/mL}$) に認められるマトリックス効果との一致度とした。模擬試験溶液は、濃縮ブランク試験溶液、検量線用混合標準溶液 (0.20 $\mu\text{g/mL}$) および内標準溶液を添加した模擬試験溶液 α (0.050 $\mu\text{g/mL}$) と、PEGの共注入を考慮してこれにさらにPEG溶液を添加した模擬試験溶液 β (0.050 $\mu\text{g/mL}$) をそれぞれ調製した。一方、標準溶液は、検量線用混合標準溶液 (0.20 $\mu\text{g/mL}$)、PEG溶液、内標準溶液、VFJmを組み合わせて添加した4種類の標準溶液 (a~d; 0.050 $\mu\text{g/mL}$) を調製した。これら模擬試験溶液 (α および β) と標準溶液 (a~d) の各農薬のピーク面積を比較した (Table 1)。ピーク面積比は以下の式で表現した。

$$\begin{aligned} & \text{ピーク面積比 (AR; \%)} \\ & = (\text{模擬試験溶液中の農薬のピーク面積}) \\ & \div (\text{標準溶液中の農薬のピーク面積}) \times 100 \end{aligned}$$

実験は3日間行い、算出したARの平均値および相対標準偏差 (RSD) に基づいてカテゴリ (I~IV) に分類した (Table 2)。最終試験溶液調製段階までの農薬の損失は考慮せず、GC-MS/MSによる分析を経て、回収率が70~120%になることが期待できる範疇としてARが70%以上かつ120%以下になった農薬をカテゴリIに分類した。カテゴリIIおよびIIIはARが50~150%の範囲においてカテゴリIから逸脱しRSDが20%以下の農薬とし、カテゴリIVはカテゴリI~IIIに分類されない農薬とした。

7. 妥当性評価の検量線

7.1 検量線1 (マトリックスマッチング法)

各食品の濃縮ブランク試験溶液 (1 mL当たり試料4 g

Table 2. Criteria of study of matrix effects on GC-MS/MS analysis

Category	Average [#] (%)	RSD* (%)
I	$70 \leq \text{AR} \leq 120$	≤ 20
II	$50 \leq \text{AR} < 70$	≤ 20
III	$120 < \text{AR} \leq 150$	≤ 20
IV	Not meeting criteria for categories I, II and III	

[#]: Average of calculated values for peak area of test solution divided by that of standard solution.

*: Analyzed by GC-MS/MS ($n=3$).

相当量)、PEG溶液、内標準溶液および検量線用混合標準溶液を正確に等量混合して調製した (最終的に1 mL当たり試料1 g相当量になる)。調製後の各農薬の濃度は0.005、0.010、0.020、0.050、0.075および0.10 $\mu\text{g/mL}$ とした。

7.2 検量線2 (PEG-VFJm併用法)

濃縮VFJm (1 mL当たり試料4 g相当量)、PEG溶液、内標準溶液および検量線用混合標準溶液を正確に等量混合して調製した (最終的に1 mL当たりVFJm 1 g相当量となる)。調製後の各農薬の濃度は7.1項と同一とした。

8. 妥当性評価

既報¹⁾のとおり、0.010および0.050 $\mu\text{g/g}$ の各添加濃度について分析者1名が併行数2で5日間の枝分かれ試験を実施した。2.5または0.50 $\mu\text{g/mL}$ の農薬混合標準溶液 (アセトン溶液) 0.2 mLを正確に試料に添加し、30分間静置後、上記5項に従って試験溶液を調製した。なお定量は試験溶液を共有し、マトリックスマッチング法およびPEG-VFJm併用法の双方で行った。PEG-VFJm併用法では、共注入法であるため試験溶液にもPEGを添加している。この試験溶液を双方の検量線で同時に評価できるよう、本報ではマトリックスマッチング法においてもPEGを添加した。これらの検量線から、真度ならびに併行および室内精度をそれぞれ算出した。評価結果をTable 3のとおり分類した。

Table 3. Validation study criteria

Category	Both concentrations	0.01 µg/g		0.05 µg/g	
	Trueness (%)	Repeatability (RSD; %)	Within-run reproducibility (RSD; %)	Repeatability (RSD; %)	Within-run reproducibility (RSD; %)
AA* or A (Required criteria [#])	≤70~≤120	<25	<30	<15	<20
B	≤50~<70	<25	<30	<15	<20
C	<120~≤150	<25	<30	<15	<20
D	Not meeting criteria for categories AA, A, B, and C				

*: Categorized both "A" using two kinds of calibration curves.

[#]: Levels of trueness, repeatability and within-run reproducibility required in the method validation guideline by Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

Table 4. Summary of number of pesticides categorized according to matrix effects

Sample	Category [#]	Standard solution*							
		A		b		c		d	
		PEG (-), VFJm (-)	IS correction ^{ss}	PEG (+), VFJm (-)	IS correction ^{ss}	PEG (-), VFJm (+)	IS correction ^{ss}	PEG (+), VFJm (+)	IS correction ^{ss}
Potato	I	6	110	107	150	144	160	153	154
	II	0	44	0	0	20	3	8	7
	III	24	7	43	6	0	2	0	0
	IV	138	7	18	12	4	3	7	7
Spinach	I	27	93	38	125	51	121	100	133
	II	0	0	0	0	0	1	0	0
	III	54	30	80	22	58	26	55	28
	IV	87	45	50	21	59	20	13	7
Apple	I	0	82	47	144	143	162	166	166
	II	0	60	0	0	0	1	0	0
	III	12	10	86	9	23	4	1	1
	IV	156	16	35	15	2	1	1	1

[#]: Category I ($70 \leq AR \leq 120$ and $RSD \leq 20$), Category II ($50 \leq AR < 70$ and $RSD \leq 20$), Category III ($120 < AR \leq 150$ and $RSD \leq 20$), Category IV (except I, II and III). AR is average of calculated values for peak area of test solution divided by that of standard solution.

*: Standard solution a (PEG (-), VFJm (-)), Standard solution b (PEG (+), VFJm (-)), Standard solution c (PEG (-), VFJm (+)), Standard solution d (PEG (+), VFJm (+)).

^s: Calculated using absolute peak areas.

^{ss}: Calculated after normalization of peak areas to internal standard (TPP).

結果および考察

1. マトリックス効果および制御の検討

いずれの食品においても、標準溶液に何も添加せず（標準溶液 a）、内標準による補正も行わない場合では、カテゴリ IV に分類される農薬が大部分を占めた（Table 4）。カテゴリ IV に分類された大半の農薬は、AR が 150% を超えており、模擬試験溶液 α におけるマトリックス効果が反映された結果と考えられた（Table S3-1~S3-3）。しかし、標準溶液 a に内標準による補正を行うことにより、カテゴリ I に分類される農薬数が大幅に増加した。これは内標準も模擬試験溶液において多くの農薬と同程度のマトリックス効果を受けていることを示している。カテゴリ II または III に分類される農薬の割合は、食品によって異なっていた。ばれいしょおよびりんごでは、カテゴリ II

が III を上回るが、ほうれんそうでは逆転していた（Table 4）。これは内標準と農薬の受けるマトリックス効果の強度の関係は、食品によって変動しやすいことを示しており、トリフェニルリン酸単独では多種類の農薬のマトリックス効果を補正することに限界があると考えられた。

標準溶液に PEG のみを添加し（標準溶液 b）、内標準による補正を行わない場合、標準溶液 a と比較してカテゴリ I に分類される農薬が増加するものの、全体ではカテゴリ III に分類される農薬が多く認められた（Table 4）。標準溶液に PEG を添加する場合、模擬試験溶液中にも PEG を添加（模擬試験溶液 β）する共注入法を採用している。共注入法では PEG の添加によって模擬試験溶液と標準溶液との間でのマトリックス効果を飽和させることで均衡を図るものと考えられる。しかし、カテゴリ III に分類される

農薬が多いのは、PEGのみを添加した状態の標準溶液bで観察されるマトリックス効果が、PEGおよび食品由来のマトリックスが共存する模擬試験溶液βで観察されるマトリックス効果よりも弱いことが原因であると考えられた。内標準による補正を行うことにより、全体的にマトリックス効果が補正されカテゴリIが増加するものの、効果の強弱の関係は変わらない結果であった。

標準溶液にVFJmのみを添加した場合(標準溶液c)、内標準による補正を行わなくても、ばれいしょおよびりんごでは、大半の農薬がカテゴリIに分類された(Table 4)。しかし、ほうれんそうではカテゴリIIIまたはIVに分類される農薬が多く、模擬試験溶液αで観察されるマトリックス効果との均衡が不十分であると考えられた。内標準による補正を行った場合、いずれの食品でもカテゴリIに分類される農薬は増加し、内標準による補正効果が認められた。

標準溶液にPEGおよびVFJmの双方を添加した場合(標準溶液d)、内標準による補正を行わなくても、いずれの食品も、100農薬以上がカテゴリIに分類された(Table 4)。りんごでは内標準による補正の有無に関係なく、166農薬がカテゴリIに分類された。内標準による補正を行った場合、ほうれんそうは133農薬がカテゴリIに分類された。ばれいしょでは、標準溶液cで内標準による補正を行った場合に劣るがカテゴリIに分類されたのは154農薬であった。多岐にわたる食品への適用を念頭に汎用性の観点から、標準溶液dで内標準による補正を行うのが最適であると考えられた。これはVFJmに由来するマトリックス効果が、PEGに由来するマトリックス効果の及ばない範囲を補完したと解釈される。

これらの結果により、標準溶液dで内標準による補正を

行ったPEG-VFJm併用法を妥当性評価に用いることが最も合理的であると考えられた。

2. 妥当性評価

2.1 感度および選択性

機器の感度に基づく定量限界(IQL: instrumental quantification limit)は、既報¹⁾に準じてPEGおよびVFJmを添加した標準溶液(0.001~0.010 μg/mL)を5回分析し、検量線の傾きの平均値(Slope)およびシグナルノイズ比(S/N比)が10を超える最低濃度でのピーク面積値の標準偏差(σ)から次式(IQL=10σ/Slope)により算出した(Table S1)。さらに、IQL付近の濃度の標準溶液を実際に分析してS/N比≥10であることを確認した。なお、IQLが0.005 μg/mLを超える農薬は認められなかった。

また、ばれいしょ、ほうれんそうおよびりんごから得られた試験溶液を分析し、評価対象農薬に対してガイドラインに示された選択性の目標値を逸脱させる妨害成分は認められなかった。

2.2 真度および精度

マトリックスマッチング法およびPEG-VFJm併用法をそれぞれ用いた際の評価結果を示した(Table 5)。詳細はTable S4-1~S4-3に示した。

マトリックスマッチング法では、評価した168農薬のうち、ばれいしょで144、ほうれんそうで158、りんごで156が、0.010および0.050 μg/gの両添加濃度で目標値*1を満たした(Table 5; 評価A)。さらに、これらのうち、PEG-VFJm併用法においても目標値を満たした農薬数は、ばれいしょで129、ほうれんそうで140、りんごで149あった(評価AA)。これらの農薬数の割合は、マトリックスマッチング法で目標値を満たした農薬数に対して、それぞれ90%(ばれいしょ)、89%(ほうれんそう)および

Table 5. Summary of number of pesticides categorized according to validation results

Category [#]	Potato		Spinach		Apple	
	Calibration		Calibration		Calibration	
	Cal. 1* (Matrix-matched)	Cal. 2** (PEG-VFJm)	Cal. 1* (Matrix-matched)	Cal. 2** (PEG-VFJm)	Cal. 1* (Matrix-matched)	Cal. 2** (PEG-VFJm)
A (AA)	144 (129)	129	158 (140)	144	156 (149)	149
<u>A</u>	5	7	6	18	8	1
B	4	9	1	1	2	6
C	0	0	0	1	0	0
D	15	23	3	4	2	12

[#]: Category AA (satisfied trueness, repeatability and within-run reproducibility at both 0.010 and 0.050 μg/g using two kinds of calibration curves)

Category A (satisfied trueness, repeatability and within-run reproducibility at both 0.010 and 0.050 μg/g)

Category A (satisfied trueness, repeatability and within-run reproducibility at either 0.010 or 0.050 μg/g)

Category B (satisfied repeatability and within-run reproducibility at both 0.010 and 0.050 μg/g, except trueness (≤50-<70))

Category C (satisfied repeatability and within-run reproducibility at both 0.010 and 0.050 μg/g, except trueness (<120-≤150))

Category D (except category AA, A, A, B, and C)

*: Calculated from calibration curve made from matrix-matched standard solutions with PEG and TPP.

** : Calculated from calibration curve made from general matrix standard solutions with PEG, TPP and VFJm.

96% (りんご) であった。

ばれいしょでは、クロジナホッププロパルギルをはじめ、シハロホップブチル、ピラフルフェンエチル、フルフェンピルエチル、ジクロホップメチル、モリネート等の除草剤の回収率が低い結果であった (Table S4-1)。LC-MS/MSを用いた高取らの報告¹³⁾ のとおり、シハロホップブチルやモリネートは、ばれいしょ中で分解したことが真度の低い原因であると考えられた。クロジナホッププロパルギル、ジクロホップメチルもフェノキシプロピオン酸系除草剤であり、シハロホップブチル同様に分解したことがその原因と推察された。また、メトルカルブ、ベンダイオカルブ、ジメチピン、エチオフェンカルブ、ホサロン、シフルトリン、シベルメトリン、フルシトリネート、フェンバレレートおよびインドキサカルブのマトリックスマッチング法による真度は約60%以上を示したが、PEG-VFJm併用法では40%未満であった。これらは、マトリックス効果および制御について検討した標準溶液dの結果において、カテゴリIIまたはIVと判定された農薬に一致しARが低い値であった (Table S3-1)。すなわち、これら農薬はPEG-VFJm併用法を用いた場合、定量値が低く算定される傾向にあった。

ほうれんそうでは、両添加濃度で、マトリックスマッチング法およびPEG-VFJm併用法の双方において、シプロジニルの平均回収率がともに20%未満であった。また、マトリックスマッチング法の真度が100%を超過した農薬数は、添加濃度0.010 µg/gで2 (ベンダイオカルブおよびBHC (δ)) であり、添加濃度0.050 µg/gで1 (フルフェンピルエチル) であった (Table S4-2)。一方、PEG-VFJm併用法の真度が100%を超過した農薬数は、添加濃度0.010 µg/gで77、添加濃度0.050 µg/gで43あった。これらの農薬は、標準溶液dを用いたマトリックス効果の検討結果において、カテゴリIIIと判定された農薬とほぼ同一であった (Table S3-2)。すなわち、ほうれんそうでは、PEG-VFJm併用法を用いた場合、多くの農薬で目標値の範囲内ではあるが定量値が高く算定される傾向にあった。

りんごは、マトリックスマッチング法で目標値を満たした農薬数に対して、PEG-VFJm併用法でも目標値を満たした農薬数の割合 (96%) が、検討した3種類の食品の中で最も高かった。これは野菜果実ジュースの主要原料の1つがりんごであることに起因すると考えられた。

今回、マトリックスマッチング法と同時にPEG-VFJm併用法について、試験溶液を共有し妥当性評価を実施した。それぞれの評価において、ともに目標値を満たした農薬については、当該食品に関して、PEG-VFJm併用法を利用できると考えられた。検討した3種類の食品と評価対象168農薬の組み合わせにおいて、マトリックスマッチング法で目標値を満たした農薬数の89~96%が、PEG-VFJm併用法でも目標値を満たした。PEG-VFJm併用法は、マトリックスマッチング法に比較して、ガイドラインの目標値から逸脱する農薬数が増えるものの、多種類の食

品の分析に際して、その種類ごとにマトリックスマッチング標準溶液の調製が不要であり、迅速かつ合理的な分析が可能であることが示唆された。特にスクリーニング分析としての有用性が高いと考えられた。一方、食品によっては、マトリックスマッチング法とPEG-VFJm併用法の評価において、それぞれの真度が乖離した農薬が認められたことから、今後、さらに評価対象食品および農薬を拡充し、PEG-VFJm併用法の有用性について検証する予定である。

結 論

- ・GC-MS/MSを用いた野菜類および果実類中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価に際し、マトリックスマッチング標準溶液に代用可能で、かつ多種類に及ぶ食品の分析に共用できる汎用マトリックス添加標準溶液を用いた。
- ・汎用マトリックス添加標準溶液として、PEG、市販の野菜果実ジュースから得た抽出液および内標準を活用した場合に最もマトリックスマッチング標準溶液に近いマトリックス効果の補正能力が認められた。
- ・汎用マトリックス添加標準溶液を活用すれば、迅速で効率的な分析が実施可能であることが示唆された。

謝 辞

本研究の一部は、平成26年度厚生労働科学研究費補助金 (食品の安全確保推進研究事業) による助成を受け実施した研究の成果である。

文 献

- 1) Takatori, S., Yamamoto, H., Fukui, N., Yamaguchi, S., Kitagawa, Y., Kakimoto, Y., Osakada, M., Okimashi, M., Kajimura, K., Obana, H. Validation study on a rapid multi-residue method for determination of pesticide residues in vegetables and fruits by LC-MS/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, **54**, 237-249 (2013).
- 2) Anastassiades, M., Maštovská, K., Lehota, S. J. Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *J. Chromatogr. A*, **1015**, 163-184 (2003).
- 3) Maštovská, K., Lehota, S. J., Anastassiades, M. Combination of analyte protectants to overcome matrix effects in routine GC analysis of pesticide residues in food matrixes. *Anal. Chem.*, **77**, 8129-8137 (2005).
- 4) Sánchez-Brunete, C., Albero, B., Martín, G., Tadeo, J. L. Determination of pesticide residues by GC-MS using analyte protectants to counteract the matrix effect. *Anal. Sci.*, **21**, 1291-1296 (2005).
- 5) Kirchner, M., Hůšková, R., Matisová, E., Mocák, J. Fast gas chromatography for pesticide residues analysis using analyte protectants. *J. Chromatogr. A*, **1186**, 271-280 (2008).
- 6) González-Rodríguez, R. M^a, Rial-Otero, R., Cancho-Grande, B., Simal-Gándara, J. Determination of 23

- pesticide residues in leafy vegetables using gas chromatography-ion trap mass spectrometry and analyte protectants. *J. Chromatogr. A*, **1196-1197**, 100-109 (2008).
- 7) 社団法人 日本分析化学会ガスクロマトグラフィー研究懇談会. ガスクロ自由自在Q&A~準備・試料導入編~. 東京, 丸善, 2007, p. 133-135. (ISBN 978-4-621-07873-0)
 - 8) 石井里枝, 野崎なおみ, 大坂郁恵, 菊池好則, 長田淳子, 高橋邦彦, 戸谷和男, 松本隆二. 大容量注入GC-MSを用いた蓄水産食品中の残留農薬一斉分析法の開発と妥当性評価. *日本食品化学学会誌*, **18(2)**, 92-102 (2011).
 - 9) 畑野和広. キャピラリー・ガスクロマトグラフ/PEG共注入法の農産物中の有機リン系農薬同時定量法への適用. *福岡市保健環境研究所報*, **28**, 74-78 (2002).
 - 10) 山口博美, 西村一彦, 橋本 諭, 平間祐志. GPC及びGC-MSによる蓄水産食品中の有機塩素系農薬及びPCB分析法の検討. *北海道衛生研究所報*, **62**, 65-70 (2012).
 - 11) 濱田幸子, 大脇成義, 土田貴正, 松本洋亘, 鳥居南 豊, 野澤真里奈, 茶谷祐行. GC/MS/MSを用いた農産物中の残留農薬検査法の評価. *京都府保健環境研究所年報*, **57**, 64-68 (2012).
 - 12) Makabe, Y., Takahashi, H., Enomoto, T., Aikawa, T. Validation study on a multi-residue analysis of pesticides in agricultural products by using phosphoric acid treatment and GC-MS/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, **55**, 188-192 (2014).
 - 13) Takatori, S., Okihashi, M., Okamoto, Y., Kitagawa, Y., Kakimoto, S., Murata, H., Sumimoto, T., Tanaka, Y. A rapid and easy multiresidue method for the determination of pesticide residues in vegetables, fruits, and cereals using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *JAOAC Int.*, **91**, 871-883 (2008).

汎用マトリックス添加標準溶液を活用した野菜類および果
実類中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価 (妥当性評価)

福井直樹* 高取 聡 山口聡子 北川陽子
吉光真人 小阪田正和 梶村計志 尾花裕孝
食衛誌 56(4), 178~184(2015)

GC-MS/MS を用いた残留農薬の一斉分析においては、マトリックス効果を補正するため、マトリックスマッチング法が多用される。しかし、多種類の試料の分析には、その種類ごとにマトリックスマッチング標準溶液を調製する必要があり煩雑で時間を要する。そこでマトリックス効果を補正し、かつマトリックスマッチング標準溶液に代用可能な、多種類の試料に共用できる標準溶液（汎用マトリックス添加標準溶液）を、ポリエチレングリコール、野菜果実ジュースおよびトリフェニルリン酸を活用し考案した。次に、ばれいしょ、ほうれんそうおよびりんごに168農薬を添加（添加濃度：0.010および0.050 μg/g）し、マトリックスマッチング法および汎用マトリックス添加標準溶液を用いた定量法（PEG-VFJm併用法）の双方で妥当性評価を実施した。これら3試料において、マトリックスマッチング法で目標値を満たした農薬数は144~158であり、PEG-VFJm併用法では129~149であった。汎用マトリックス添加標準溶液を活用すれば、迅速で効率的な分析が実施可能であることが示唆された。

* 大阪府立公衆衛生研究所