

LC/MS/MSによる農作物中の残留農薬一斉分析法

誌名	食品衛生学雑誌
ISSN	00156426
著者名	石井,里枝 高橋,邦彦 堀江,正一
発行元	[日本食品衛生学会]
巻/号	47巻5号
掲載ページ	p. 201-212
発行年月	2006年10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



報 文

LC/MS/MS による農作物中の残留農薬一斉分析法

(平成 18 年 5 月 10 日受理)

石井里枝*[†] 高橋邦彦* 堀江正一*

Simultaneous Determination of Pesticide Residues in Crops by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry

Rie ISHII[†], Kunihiko TAKAHASHI and Masakazu HORIE(Saitama Prefectural Institute of Public Health: 639-1, Kamiokubo, Sakura-ku, Saitama 338-0824, Japan; [†] Corresponding author)

A simultaneous method using liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS) was developed for the determination of pesticide residues in crops. Mass spectral acquisition was performed in the positive mode by applying multiple reaction monitoring. In LC separation, an Atlantis dC18 Column was used with acetic acid-ammonium acetate-acetonitrile as the mobile phase. Pesticide residues in crops were extracted with acetone, and cleaned up by liquid-liquid separation with saturated salt solution and hexane, followed by an ENVI-Carb cartridge. The quantification limits of compounds in crops were below 5 ng/g. Eighty compounds were obtained with recoveries ranging from 60 to 130% at the level of 50 ng/g with *RSD* (%) of less than 15%. Fifty crop samples were analyzed by the developed method. Seven pesticide residues were detected in nine crops.

(Received May 10, 2006)

Key words: 残留農薬 pesticide residue; 液体クロマトグラフィー/質量分析法 LC/MS; 液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法 LC/MS/MS; 一斉分析 simultaneous determination; 農作物 crop

緒 言

近年、わが国においては輸入冷凍食品の残留農薬問題、国内での無登録農薬使用の問題を端緒に、2003年、食品衛生法の大幅な改正がなされ、2006年5月からポジティブリスト制度が施行される。これに伴い、約500種の農薬に暫定基準が設定され、基準が設定されていない農薬については一律基準が適用される。この新たな制度に基づき、食の安心、安全を確保するためには効率の良い監視が必要であり、迅速かつ簡便で精度の高い多成分分析法の開発が早急に求められている。これまでに報告されている多成分一斉分析法の多くは、GCやGC/MS(/MS)^{1)~4)}を用いたものである。しかし、カーバメート系農薬やベンズイミダゾール系などの極性の高い農薬、難揮発性あるいは熱分解しやすい農薬の分析にGCを適用するのは困難であり、これら化合物の分析法についてはLCを用いた方法が有効である。また、検出器には選択性、感度の両面からMS/MSの使用がこれからの一斉分析法には欠くことができないと考えられる。これらを組み合わせたLC/MS/MS

による分析法は残留農薬分析のパフォーマンスを大きく向上させることが可能であるといえる。近年、LC/MS/MSを用いた一斉分析法が数多く報告^{5)~11)}されている。しかし、それらの中には定量下限値が厚生労働省で示している一律基準値0.01 ppmをクリアできないものや、煩雑な前処理操作を必要とするもの、適用できる対象農薬数が少ないもの、LCでの測定が適する高極性農薬のみを対象とするためGCを適用する農薬については抽出操作から別法により行わなければならないもの、ジクロロメタンなどの有害な溶媒を使用するものなどがあり、既報の分析法を日常のルーチン分析に適用するには問題がある。したがって、一律基準値の1/2濃度までの定量が可能であること、定量と同時に確認試験法としても用いることができること、GCを適用する農薬の抽出に応用できること、これらを満足する簡便で精度の高い一斉分析法の開発が必要であると考える。そこで著者らはすでにGC/FPD、GC/MSおよびHPLC-ポストカラム蛍光検出器を用いた123農薬の一斉分析法^{12), 13)}を報告してきたことから、本研究では既報の抽出操作から一部LC/MS/MS測定用に抽出液を採取し、新たにLC分析が適用可能な103農薬について一斉分析法を検討した。また検討した分析法を用いて、残留実

[†] 連絡先

* 埼玉県衛生研究所: 〒338-0824 さいたま市桜区上大久保639-1

態調査を行ったので報告する。

実験方法

1. 試料および試薬

試料：埼玉県内で市販されている玄米，大豆，ブロッコリー，キャベツ，にんじん，かぼちゃ，りんご，オレンジ，きゅうり，およびなすを用いた。

標準品：和光純薬工業(株)製，林純薬工業(株)製，関東化学(株)製，Dr. Ehrenstorfer社製，Riedel-de Haën社製，AccuStandard社製の残留農薬試験用を用いた。

標準溶液：各農薬標準品10 mgを精ひょうし，アセトニトリルまたはメタノールに溶解して1,000 mg/Lとしたものを標準原液とした。これらの標準原液を混合しアセトニトリルで5 mg/Lとなるように混合標準溶液を調製した。

固相抽出用ミニカラム：Supelco社製Supelclean ENVI-Carb (0.25 g) (以下ENVI-Carbとする)，ENVI-Carb/LC-NH₂ (500 mg/500 mg) (以下NH₂とする)，Varian社製Bond Elut PSA (500 mg) (以下PSAとする)を用いた。いずれも20%アセトン含有ヘキサンでコンディショニングを行い，実験に用いた。

その他の試薬には，メタノールおよびアセトニトリルは高速液体クロマトグラフ用を，その他の試薬は残留農薬試験用を用いた。

2. 装置

高速液体クロマトグラフ：Waters社製Alliance 2695

質量分析装置：Waters社製Quattro Premier

3. HPLC条件

分析カラム：Waters社製Atlantis dC18 (2.1 mm i.d. ×150 mm，粒子径3 μm)，カラム温度：40°C，移動相：A液 水，B液 アセトニトリル，C液 0.2%酢酸，D液 200 mmol/L酢酸アンモニウム，グラジエント条件：0～1分(A:B:C:D=90:5:2.5:2.5)→3分(55:40:2.5:2.5)→25～33分(5:90:2.5:2.5)→33～40分(90:5:2.5:2.5)，流速：0.2 mL/min (33～40分までは0.35 mL/min)，注入量：10 μL

4. MS条件

イオン化法：ESI，ポジティブモード，分析モード：MRMモード，キャピラリー電圧：3.5 kV，イオンソース温度：120°C，コーンガス：N₂，50 L/hr，乾燥ガス：N₂，900 L/hr，400°C

化合物ごとの測定条件はTable 1に示した。

5. 定量

試験溶液10 μL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絶対検量線法により定量した。

6. 試験溶液の調製

6.1 野菜および果実

細切した試料20 gを採りアセトン80 mLを加え2分間ホモジナイズし，吸引ろ過した。さらにアセトン40

mLで残渣を洗浄し，先のろ液と合わせた。ろ液をあらかじめ飽和食塩水50 mLの入った分液漏斗に移し，ヘキサン50 mLを加えて10分間振とうした。静置後，有機層を採取し，減圧乾固した。20%アセトン含有ヘキサン5 mLに溶解し，これを抽出溶液とした。そのうち4 mLを既報¹²⁾に従い，GC-FPDおよびGC/MSの測定に供した。0.5 mLをENVI-Carbに負荷し，50%アセトン含有ヘキサン6 mLで溶出した。溶出液を減圧濃縮し，残渣を50%メタノール10 mLに溶解し，0.45 μmフィルターを通したものをLC/MS/MS用試験溶液とした。

6.2 玄米および大豆

玄米および大豆については野菜の試験溶液の調製法に準拠したが，以下の点を変更した。抽出時に水20 mLを添加し2時間膨潤させた後，アセトンで抽出した。有機層を採取し，減圧乾固した後，アセトニトリル飽和ヘキサン50 mLを加え残さを溶解し，分液漏斗へ移した。さらにヘキサン飽和アセトニトリル50 mLを加え，先の分液漏斗へ合わせた。10分間振とう，静置後，アセトニトリル層を分取し，減圧乾固したのち，20%アセトン含有ヘキサン5 mLで溶解した。以下，野菜と同様にENVI-Carbに負荷し，試験溶液を作製した。

結果および考察

1. LC/MS/MS条件の検討

1.1 LC条件の検討

分離カラムは数種のODS系カラム(Atlantis dC18, Symmetry C18, Xterra MS C18, Mightysil RP-18 GP)について感度，ピーク形状および保持時間を比較検討したところAtlantis dC18が極性化合物のピーク形状，保持が良く，最も良好であった。

MS部におけるイオン化の促進および安定化のため，移動相に添加する揮発性の添加剤について検討した。ギ酸，酢酸，ギ酸アンモニウム，酢酸アンモニウムについて検討したところ，酢酸アンモニウムが検討した農薬の多くで最も効率的にプロトン化分子を生成した。また，その濃度について1, 5, 10, 20 mmol/Lの濃度を検討したところ，5あるいは10 mmol/L濃度で多くの農薬のピーク面積値が最大となったことから，濃度は5 mmol/Lとした。また，酢酸アンモニウムとともに，0.005%濃度の酢酸を添加した場合，保持時間の速い比較的極性の高い農薬のカラムへの保持が促進された。有機溶媒はメタノールおよびアセトニトリルについて検討したが，ピーク形状，カラム圧を考慮し，アセトニトリルを採用した。農薬の検出時間以降(33～40分)流速を0.2 mL/minから0.35 mL/minにあげ，より早く初期条件にカラムを平衡化させることにより，分析時間の短縮を図った。

1.2 MS条件の検討

検討した農薬は比較的極性に富む化合物であることから，インターフェイスには極性化合物のイオン化に適したエレクトロスプレーイオン化(ESI)を選択し，高感度かつ

Table 1. Analyte-specific Parameters of 103 Compounds

Analyte	Group	Monitor ion 1 (<i>m/z</i>)			Monitor ion 2 (<i>m/z</i>)			MRM trace	Collision (eV)
		MRM trace	Cone (V)	Collision (eV)	MRM trace	Cone (V)	Collision (eV)		
Imazaquin	A	312>267	40	20	312>199	40	30	312>181	
Oxamyl		237>72	10	20	237>90	10	10		
Metsulfuron-methyl	B	382>167	20	20	382>135	20	40		
Methomyl		163>88	10	10	163>106	10	10		
Methomyl oxim		106>106	20	10	106>58	20	10		
Thifensulfuron-methyl		388>167	20	20	388>205	20	30	388>141	
Chlorsulfuron		358>167	20	20	358>141	20	20	358>111	
Flumetsulam		326>129	30	30	326>326	30	10		
Thiamethoxam		292>211	20	10	292>181	20	20	292>132	
Metamitron		203>175	30	20	203>104	30	20		
Carbendazim		192>160	30	20	192>132	30	30		
Rimsulfuron		432>182	30	20	432>325	30	20	432>139	
Clothianidin	250>169	20	10	250>132	20	20	250>113		
Florasulam	360>129	30	20	360>360	30	10			
Thiabendazole	202>175	50	30	202>131	50	30			
Halosulfuron-methyl	435>182	30	20	435>139	30	50			
Carbofron-3OH	238>163	20	10	238>220	20	10			
Chloridazon	222>104	40	20	222>92	40	30	222>77		
Fluazifop	328>282	50	20	328>254	50	30			
Acetamiprid	223>126	30	20	225>128	30	20	223>99		
Flazasulfuron	C	408>182	30	20	408>139	30	50		
Pyrazosulfuron-ethyl		415>182	30	20	415>139	30	50		
Cinosulfuron		414>183	30	20	414>157	30	30		
Prosulfuron		420>141	20	20	420>167	20	20	420>109	
Triasulfuron		402>167	30	20	402>141	30	20	402>121	
Thidiazuron		221>102	30	20	221>128	30	20		
Ethoxysulfuron		399>261	30	20	399>218	30	30		
Oxycarboxin		268>175	20	20	268>147	20	20		
Thiacloprid		253>126	30	20	253>99	30	40		
Tebuthiuron		229>172	30	20	229>116	30	30		
Haloxyfop	362>316	20	20	362>91	20	30			
Dimethirimol	D	210>98	40	30	210>71	40	30		
Diclosulam		406>161	30	30	406>378	30	20	406>406	
Cloransulam methyl		430>370	30	20	430>397	30	10	430>153	
Chlorimuron-ethyl		415>186	30	20	415>121	30	40		
Aldicarb		213>213	30	10					
Isouron		212>167	30	20	212>72	30	20	212>212	
Tribenuron-methyl		396>155	20	10	396>181	20	20	396>199	
Thiophanate-methyl		343>151	20	20	343>93	20	50	343>311	
Thiodicarb		355>88	20	20	355>108	20	20	355>149	
Propoxur		210>111	20	20	210>168	20	10	210>93	

Table 1. Continued

Analyte	Group	Monitor ion 1 (<i>m/z</i>)			Monitor ion 2 (<i>m/z</i>)			Monit
		MRM trace	Cone (V)	Collision (eV)	MRM trace	Cone (V)	Collision (eV)	MRM trace
Carbofuran	E	222>123	20	20	222>165	20	10	222>222
Furametpyr hydroxy		332>157	30	30	334>159	30	20	
Methabenzthiazuron		222>150	20	30	222>165	20	10	
Bendaiocarb		224>167	20	10	224>109	20	20	224>81
Carbaryl		202>145	20	10	202>127	20	30	202>117
Pirimicarb		239>182	30	20	239>72	30	30	
Triflurosulfuron-methyl		493>264	30	20	493>96	30	50	
Bensulfuron-methyl		411>149	30	20	411>182	30	20	411>119
Thiofanox		241>184	30	10	241>98	20	20	
Furametpyr		334>157	30	30	334>290	30	20	334>131
Atrazin	F	216>174	30	20	216>132	30	20	216>104
Metalaxyl		280>192	20	20	280>248	20	10	280>160
Inabenzifide		339>321	30	20	339>339	30	10	
Isoproturon		207>72	30	20	207>165	30	20	
Diuron		233>72	30	20	235>72	20	20	233>233
3,4,5-Trimethacarb		194>137	20	10	194>122	20	30	
Dimethomorph (<i>E,Z</i>)		388>301	40	20	388>165	40	30	388>139
Chlorfluazuron		540>383	40	30	542>385	40	20	
Methiocarb		226>169	20	10	226>121	20	20	226>91
Fenobucarb		208>95	20	20	208>152	20	10	208>77
Fluridone		330>310	50	30	330>294	50	40	330>290
Promecarb	G	208>151	20	10	208>109	20	20	
Iprovalicarb		321>119	20	20	321>203	20	10	321>186
Simeconazole		294>135	30	20	294>70	30	20	294>115
Fenamidone		312>92	20	30	312>236	20	20	312>264
Azoxystrobin		404>372	20	20	404>329	20	30	404>344
Fenhexamid		302>97	30	30	302>143	30	30	
Diflubenzuron		311>158	20	20	311>141	20	30	
Triflumizole metabolite		295>195	30	30	297>197	30	30	
Imazalil		297>159	30	20	299>161	30	20	
Methoxyfenozide		369>149	10	20	369>313	10	10	369>91
Benzobicyclon	H	447>257	40	30	447>349	40	30	447>229
Tetrachlorvinphos (<i>Z</i>)		367>127	30	20	365>127	30	20	367>206
Fenoxycarb		302>116	20	10	302>88	20	30	
Chlomaferozide		395>175	20	20	395>339	20	10	395>147
Flufenacet		364>194	20	10	364>152	20	20	364>124
Butafenacil		475>331	30	20	475>180	30	40	475>349
Tebufenozide		354>297	10	10	354>133	10	20	
Cyazofamid		325>108	20	20	325>261	20	10	325>325
Triflumuron		359>156	20	20	359>139	20	20	
Carpropamid		334>139	30	20	336>139	30	20	334>103

Table 1. Continued

Analyte	Group	Monitor ion 1 (m/z)			Monitor ion 2 (m/z)			Monit
		MRM trace	Cone (V)	Collision (eV)	MRM trace	Cone (V)	Collision (eV)	MRM trace
Anilofos	I	368>199	20	20	368>171	20	20	368>125
Bensulide		398>314	20	10	398>158	20	20	398>356
Clodinafop propargyl		350>266	30	20	350>238	30	30	350>91
Triflumizole		346>278	20	10	346>346	20	10	346>73
Clofentezine		303>138	20	10	305>138	20	10	
Pencycuron		329>125	30	30	329>329	30	10	
Benzofenap		453>320	40	20	453>147	40	30	453>266
Indoxacarb MP		528>203	30	40	528>150	30	20	528>249
Cyflufenamid		413>295	30	20	413>203	30	40	413>241
Cloquintcetmexyl	J	336>238	30	20	336>192	30	30	336>179
Clomeprop		324>120	30	20	324>203	30	20	
Furathiocarb		383>195	30	20	383>252	30	30	383>167
Oxaziclomefone		376>190	20	20	376>161	20	30	376>133
Fenpyroximate (<i>E,Z</i>)		422>366	20	20	422>214	20	30	422>138
Fluazifop-buthyl		384>282	30	20	384>328	30	20	
Flufenoxuron		489>158	40	20	489>141	40	50	
Hexythiazox		353>168	20	30	353>228	20	30	353>115
Abamectin B1		896>751	40	50	896>327	40	40	896>896
Ethofenprox		394>359	30	10	394>359	30	10	
Fenpropimorph		304>147	50	30	304>130	50	30	304>117
Pyridate		379>207	20	20	379>351	20	10	

高選択的に分析するため MRM (Multiple Reaction Monitoring) 法で測定した。各農薬のモニターイオンを最も効率的に生成するコーン電圧, コリジョンエネルギーを検討した結果, Table 1 に示す条件が最適であった。本研究で検討した農薬はすべてポジティブモードでの測定が適切であった。また, プレカーサーイオンはチオフェノックスとアバメクチン B1 が Na 付加イオンを, エトフェンプロックスが NH₄ 付加イオンとした以外はすべて [M+H]⁺ を測定対象とした。アルジカルブ以外は各農薬とも定量用イオンと確認用イオンを 1 ないし 2 設定した。検討した農薬のうち塩素や臭素原子を含むものは, その同位体比から特徴的な MS スペクトルが得られることから, 確認イオンとして同位体をプレカーサーイオンとしたプロダクトイオンを確認用イオンとして設定することにより, 同定能力を向上させた。モニターイオン数が多いため, 10 グループにグループ化し, 1 成分につきデータ取り込みポイントが 15 ポイント以上となるようにし, 定量精度を確保した。キャピラリー電圧については 0.6, 1.0, 2.0, 3.0, 3.5 kV と変化させて検討したところ, 3.5 kV 時に多くの農薬で感度が最も高くなったことから 3.5 kV とした。また, 試験溶液はスイッチングバルブを用いて農薬検出時間のみ MS 部へ導入し, MS 部の汚れの軽減を図った。

2. MRM の分析精度

定量イオンを用いて絶対検量線を作成した。1~20 ng/mL (0.01~0.2 ng) の範囲で良好な直線性 ($r=0.988\sim 1.000$) が得られた。また, 2 濃度 (2, 10 ng/mL) における測定を 5 回行い, ピーク面積の変動係数を求めたところ, いずれの農薬においても 7% 以内であった。なお, 本法を用いた各標準品の定量限界は 1 ng/mL ($S/N\geq 10$) であった。

3. 前処理法の検討

3.1 抽出溶媒の検討

残留農薬の多成分一斉分析の抽出溶媒としてはアセトニトリル^{1), 2), 4), 9)}, アセトン³⁾, 酢酸エチル^{6), 7), 10)}, メタノール^{5), 11)}で行う方法などが報告されている。本試験法では既報¹²⁾で用いたアセトン抽出を採用した。本抽出法はアセトンの抽出後の有機溶媒への転溶を飽和塩化ナトリウム水溶液-ヘキサン-アセトン混合溶液で行い, 飽和塩化ナトリウム水溶液の塩析効果を利用することにより, 水溶性のアセトンを水と分離させ, ヘキサン層へ移行させるため, 水溶性の高い農薬も有機層に抽出された。また, 抽出後の濃縮操作を省略できることから抽出時間を大幅に短縮できた。さらに検討したすべての検体においてエマルジョンの生成は見られず, 煩雑な遠心操作などは不要であった。

3.2 ミニカラムによる精製操作の検討

精製操作で用いるカートリッジミニカラムについて検討した。色素の除去に有効な ENVI-Carb, 厚生労働省から平成 17 年 11 月 29 日に示された農薬等の一斉分析法¹⁴⁾で用いられている NH₂, 脂肪酸の除去に優れている PSA について検討した。ブロッコリー抽出溶液に 103 農薬を添

Table 2. Recoveries of 36 Pesticides on Different Kinds of Mini-columns

Analyte	Recovery (%)		
	ENVI-Carb	PSA	NH ₂
Bensulfuron-methyl	97.6	48.9	32.5
Benzobicyclon	98.6	6.5	94.5
Carbendazim	52.9	89.2	40.1
Chlorfluazuron	42.6	50.1	41.3
Chlorimuron-ethyl	104.5	28.6	10.9
Clodinafop propargyl	93.6	52.9	91.7
Clofentezine	20.3	89.6	17.8
Clomeprop	47.9	56.1	46.2
Cloransulam-methyl	96.9	41.6	38.4
Diclosulam	97.5	36.4	27.9
Diflubenzuron	26.9	76.9	21.3
Ethofenprox	48.6	89.6	42.1
Ethoxysulfuron	95.2	23.5	12.5
Fenhexamid	240.3	220.6	180.9
Flazasulfuron	97.6	32.6	48.6
Florasulam	94.6	11.8	25.8
Flufenoxuron	56.9	34.0	48.9
Furametpyr hydroxy	30.6	20.8	5.9
Halosulfuron methyl	101.5	41.2	53.2
Hexythiazox	98.6	63.2	94.3
Imazaquin	21.3	10.6	5.2
Inabenzfide	11.3	98.6	10.1
Methabenzthiazuron	61.3	87.9	41.6
Prosulfuron	105.5	22.9	53.6
Pyrazosulfuron-ethyl	104.3	52.3	42.7
Pyridate	64.8	12.4	56.8
Rimulusulfuron	13.6	20.8	6.9
Thiabendazole	12.6	85.2	8.9
Thidiazuron	10.6	15.6	11.8
Thifensulfuron-methyl	25.8	10.8	16.9
Thiodicarb	99.7	31.4	96.8
Thiofanox	68.9	31.4	61.8
Thiophanate-methyl	10.6	16.9	5.6
Tribenuron-methyl	100.6	41.3	36.9
Triflururon	96.7	59.7	94.8
Triflusulfuron-methyl	96.1	23.9	41.8

加し (抽出溶液中で 200 ng/g 濃度), 各カートリッジに負荷した。50%アセトン含有ヘキサン 6 mL で溶出し, 各農薬の回収率を求めた。その結果, 67 農薬についてはいずれのカートリッジカラムでも 90~110%の回収率が得られたが, その他の 36 農薬についてはカートリッジによって回収率に差が認められた (Table 2)。検討した 3 種のカートリッジの中で ENVI-Carb が最も多くの農薬で良好な回収率を示した。また, 検討した 3 種のカートリッジの中で ENVI-Carb と NH₂ の 2 つのカートリッジが色素の除去に極めて有効であった。以上のことから精製操作のミニカートリッジとして ENVI-Carb を採用することとした。

3.3 マトリックス効果の低減

LC/MS 分析においてはしばしばマトリックスの影響により, 測定目的成分の感度の低下や増強作用が認められ, 定量精度が低下する場合がある。そのような場合, マトリックスを含む標準溶液を用いた検量線や標準添加法によ

Table 3. Recoveries of Pesticides Added to Agricultural Products

Analyte	Recovery (%)*														
	Broccoli		Carrot		Cabbage		Pumpkin		Apple		Orange		Cucumber		
	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	
3,4,5-Trimethacarb	102.3	3.4	97.2	5.8	105.8	7.9	101.4	5.2	103.8	4.9	114.2	4.8	92.6	5.4	10
Abamectin B1	81.6	12.6	62.8	6.9	100.8	9.4	85.6	7.6	81.6	13.5	99.8	8.6	111.6	5.9	12
Acetamiprid	86.9	2.1	86.9	6.4	89.4	5.6	85.6	6.3	89.6	3.7	79.6	5.6	89.1	4.8	8
Aldicarb	109.8	4.5	90.6	6.5	106.9	9.8	108.4	2.9	103.9	13.6	114.8	9.1	106.4	6.8	11
Anilofos	89.5	4.1	92.6	1.6	99.5	7.1	88.6	6.9	94.1	11.5	102.8	9.5	89.3	3.9	9
Atrazin	91.1	10.6	100.4	3.2	107.4	3.8	109.8	1.6	93.7	9.1	106.4	8.2	101.9	4.8	10
Azoxystrobin	93.6	13.5	103.4	6.8	101.8	7.4	101.4	5.8	103.8	11.7	107.6	14.2	92.6	3.8	8
Bendaiocarb	105.2	6.4	98.4	1.2	102.8	3.7	100.4	5.1	99.7	4.0	109.7	4.8	108.6	5.1	10
Bensulfuron-methyl	96.5	6.4	90.5	8.9	80.1	14.3	93.6	3.6	75.9	13.6	101.8	11.5	87.9	2.9	6
Bensulide	86.5	12.4	79.6	7.3	79.6	2.2	73.6	5.8	80.6	4.1	84.5	9.1	83.6	3.9	8
Benzobicyclon	84.6	12.8	75.8	3.6	76.8	5.1	80.6	5.1	64.8	2.8	89.6	11.7	65.9	4.9	6
Benzofenap	94.1	11.6	100.2	3.9	111.6	13.8	86.9	9.5	108.6	12.4	116.8	7.5	84.2	8.6	8
Butafenacil	85.6	10.4	86.4	11.8	84.5	6.1	73.9	2.4	88.6	11.7	99.6	6.8	94.5	3.9	9
Carbaryl	89.6	3.6	95.6	3.6	97.1	8.1	101.6	3.9	89.7	6.7	79.4	3.7	95.7	6.8	10
Carbofron-3OH	95.6	2.5	106.9	6.4	84.6	3.9	106.1	6.8	100.6	6.4	89.6	6.4	99.4	10.7	10
Carbofuran	115.0	10.4	106.5	3.9	110.4	6.9	109.8	5.2	101.6	6.4	108.9	10.8	106.4	3.7	11
Carpropamid	87.5	13.6	84.6	6.7	100.6	9.4	84.2	2.0	91.6	4.8	97.6	11.4	80.6	13.6	8
Chlomefenozide	102.3	0.9	95.8	6.7	102.5	5.5	105.4	6.8	97.5	9.1	106.3	2.8	103.3	3.4	10
Chloridazon	91.5	10.6	87.9	2.0	86.9	8.5	86.9	2.6	87.6	9.1	88.6	6.4	68.9	5.6	6
Chlorimuron-ethyl	101.5	3.5	90.8	4.9	100.6	7.9	108.5	3.9	91.8	9.4	106.7	13.2	116.8	7.6	10
Chlorsulfuron	94.5	13.5	100.2	3.6	106.4	5.7	104.5	1.3	104.6	3.5	103.6	12.3	114.5	7.0	10
Cinosulfuron	87.9	10.4	98.5	2.6	94.6	5.6	105.6	3.8	96.5	6.7	87.6	13.9	113.4	2.8	11
Clodinafop propargyl	63.9	6.1	63.4	8.2	65.8	3.1	60.5	2.1	66.5	2.9	63.9	3.8	61.8	8.5	6
Cloquintcetmexyl	88.6	10.6	87.3	5.7	78.6	13.6	76.5	6.4	67.9	6.9	89.4	2.9	78.6	3.9	6
Cloransulam-methyl	96.8	8.1	105.4	3.9	103.8	14.2	106.2	3.9	101.5	8.4	110.4	5.9	114.6	4.8	11
Clothianidin	89.5	12.5	80.6	5.6	98.4	10.3	105.6	6.3	83.9	12.4	90.0	11.0	72.6	1.3	8
Cyazofamid	82.9	9.1	79.6	6.1	98.6	14.6	74.6	2.1	84.6	12.5	83.6	12.1	85.6	14.3	7
Cyflufenamid	83.6	14.2	76.3	8.5	84.6	7.6	73.4	6.2	84.3	3.9	89.5	3.4	72.1	7.6	7
Diclosulam	104.6	10.6	89.4	3.6	101.5	11.5	102.4	3.9	104.8	9.1	90.8	4.2	103.9	3.9	10
Dimethirimol	82.6	10.6	83.6	3.9	79.8	8.4	108.6	2.6	53.1	9.1	8.1	1.0	62.5	6.1	8
Dimethomorph (E,Z)	91.6	10.2	95.6	5.6	98.6	4.5	100.2	6.1	96.2	10.7	95.7	9.8	90.6	5.7	9
Diuron	102.8	6.4	105.9	6.7	104.9	9.7	104.4	1.1	106.8	12.5	115.7	5.9	97.8	10.4	8
Ethoxysulfuron	82.6	14.8	41.6	6.9	16.9	9.2	96.8	10.9	19.6	7.5	67.8	12.4	52.1	14.0	7
Fenamidone	103.6	10.9	83.5	6.1	92.8	6.8	87.6	6.2	95.7	9.4	100.2	6.7	83.6	10.7	7
Fenobucarb	101.6	12.6	86.4	1.8	90.8	3.6	102.8	6.0	89.6	13.4	103.9	6.4	85.1	4.9	8
Fenoxycarb	82.5	13.4	93.6	5.7	95.8	13.6	86.4	2.1	85.6	13.3	96.8	13.7	71.8	9.9	7
Fenpropimorph	102.6	2.6	97.4	6.1	98.4	4.1	95.6	6.4	102.5	10.7	89.6	11.7	97.8	2.8	9
Fenpyroximate (E,Z)	85.6	14.0	87.6	10.5	97.6	5.4	69.5	10.4	74.8	6.7	90.8	3.7	68.4	4.5	8
Flazasulfuron	93.9	9.4	91.6	6.5	102.6	9.8	95.6	6.5	98.6	10.4	108.5	7.6	110.8	7.8	11
Florasulam	94.5	5.1	100.4	2.0	105.6	2.8	106.9	1.5	101.6	10.4	119.5	2.8	101.8	6.4	8

Table 3. Continued

Analyte	Recovery (%)*															
	Broccoli		Carrot		Cabbage		Pumpkin		Apple		Orange		Cucumber		E	
	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Me	
Fluazifop	74.6	10.6	70.4	6.3	81.4	2.7	64.5	3.5	75.6	5.9	79.6	4.5	70.5	3.9	73	
Fluazifop-buthyl	69.8	13.6	76.3	10.8	98.6	5.4	68.5	3.9	79.5	6.9	75.1	9.4	76.9	8.5	83	
Flufenacet	112.6	10.2	83.4	3.4	100.3	12.8	84.5	1.9	90.6	4.4	92.8	9.5	92.8	14.8	93	
Flumetsulam	85.6	11.3	96.3	2.4	96.5	12.1	91.6	2.4	95.6	11.0	95.3	6.1	119.4	12.6	97	
Fluridone	95.3	3.1	101.8	5.7	105.6	2.7	90.9	6.7	104.7	4.8	67.9	7.3	87.6	2.8	88	
Furametpyr	107.6	3.5	97.8	5.8	104.1	6.7	111.0	6.1	104.1	7.8	112.4	6.1	109.4	1.9	111	
Furathiocarb	90.6	12.5	83.6	6.4	86.5	2.7	78.6	5.8	82.5	9.4	89.6	4.1	97.6	1.8	98	
Halosulfuron-methyl	115.0	11.6	117.5	2.6	116.5	4.8	101.6	3.2	106.5	3.8	125.7	10.6	93.8	8.6	122	
Haloxifop	89.7	7.1	118.1	5.7	76.8	11.9	114.6	5.2	96.8	14.0	86.9	2.8	99.8	5.7	94	
Hexythiazox	73.6	11.6	63.8	13.6	85.6	13.9	62.1	3.5	88.5	11.6	100.8	13.4	63.8	5.4	63	
Imazalil	90.6	5.2	43.9	6.9	39.6	16.8	73.6	12.9	21.5	14.8	12.8	13.6	49.8	3.9	63	
Indoxacarb MP	72.9	11.4	62.5	6.7	65.9	1.4	66.5	4.6	69.8	9.4	75.1	4.8	71.6	6.3	72	
Iprovalicarb	94.5	2.6	94.8	6.8	100.2	6.4	107.6	3.1	102.8	9.4	112.6	10.8	97.6	3.7	106	
Isoproturon	103.6	11.5	85.4	6.1	105.9	5.7	110.1	0.8	101.4	9.8	115.9	4.8	108.9	14.6	103	
Isouron	104.8	8.6	99.8	2.6	108.6	9.4	108.3	6.5	108.4	6.1	111.4	5.6	104.9	4.8	111	
Metalaxyl	105.6	4.5	99.9	2.2	107.1	1.3	109.4	3.4	98.5	7.1	111.3	3.0	119.6	2.8	110	
Metamitron	72.6	7.5	59.6	12.3	69.8	3.9	75.4	4.9	67.9	13.6	45.1	13.5	69.1	5.8	74	
Methiocarb	111.6	6.2	94.8	6.1	109.5	9.4	94.6	5.8	94.8	3.7	108.6	5.1	82.5	5.4	90	
Methomyl	79.1	11.0	79.3	12.3	88.5	4.3	95.3	3.6	84.5	2.6	84.6	14.2	88.2	11.3	92	
Methomyl oxim	75.3	6.1	75.3	3.6	82.6	6.2	94.3	6.2	82.3	6.4	81.3	6.5	81.6	9.1	88	
Methoxyfenozide	104.5	1.6	97.5	5.8	99.6	4.4	105.3	4.2	101.8	6.9	103.9	1.8	92.6	9.8	92	
Metsufuron-methyl	94.5	6.0	92.6	3.6	96.5	2.6	100.3	5.6	100.6	3.4	100.6	2.6	104.3	3.7	106	
Oxamyl	72.3	6.2	72.3	6.2	70.2	8.6	70.6	3.6	73.6	5.9	69.5	10.6	79.6	12.3	63	
Oxaziclomefone	89.6	11.6	84.6	6.7	94.6	5.1	71.5	1.4	86.5	9.5	98.4	3.7	86.5	2.4	92	
Oxycarboxin	102.5	11.4	89.4	3.6	104.1	5.0	110.2	3.4	106.7	5.4	104.1	8.9	95.4	1.0	103	
Pencycuron	88.6	12.4	79.8	13.6	87.5	2.4	76.5	5.1	83.2	6.5	94.6	4.8	84.3	3.6	86	
Pirimicarb	103.3	3.4	100.3	3.8	100.1	9.1	97.5	5.3	108.6	12.8	96.8	5.5	108.4	3.9	110	
Promecarb	103.6	6.1	98.4	4.6	99.8	5.2	100.2	6.9	97.6	8.4	102.8	9.5	83.6	4.1	82	
Propoxur	97.8	6.1	101.4	2.7	96.7	4.1	106.7	0.9	97.4	10.5	109.5	3.8	100.2	8.4	101	
Prosulfuron	109.6	13.6	109.4	2.6	121.5	10.5	113.6	3.9	104.8	6.8	124.6	12.8	104.8	6.8	111	
Pyrazosulfuron-ethyl	101.6	14.6	102.5	3.2	107.6	12.5	98.6	0.5	101.5	10.6	119.6	11.7	111.5	5.9	121	
Simeconazole	102.6	4.5	111.8	7.6	101.6	6.7	95.3	6.5	91.5	5.6	99.1	1.8	80.9	6.7	103	
Tebufenozide	93.5	13.2	93.6	6.7	105.4	6.3	102.8	6.2	99.1	11.8	105.6	12.4	107.6	1.4	108	
Tebuthiuron	102.1	11.8	106.4	3.1	110.6	2.4	104.9	6.5	107.8	4.6	101.6	1.4	88.9	5.9	103	
Tetrachlorvinphos (Z)	105.6	8.2	104.8	6.7	113.6	1.7	85.3	6.4	95.8	14.5	106.4	14.1	84.7	9.4	80	
Thiacloprid	97.6	5.2	91.6	3.7	98.6	2.8	97.6	3.8	99.7	6.9	88.6	5.4	61.8	1.8	93	
Thiamethoxam	64.5	13.0	70.6	2.6	84.6	4.6	64.3	10.4	79.6	6.4	85.6	5.2	63.9	8.6	71	
Thiodicarb	86.9	9.4	88.6	6.1	94.8	9.0	105.2	3.1	100.0	6.4	83.9	14.0	105.1	13.2	90	
Triasulfuron	102.5	14.8	98.6	3.6	117.3	9.1	110.6	6.4	108.6	13.0	106.9	13.2	134.6	3.2	134	
Tribenuron-methyl	93.6	6.1	88.8	4.1	80.8	9.9	87.7	5.2	67.9	4.4	73.9	5.8	86.9	5.5	71	

Table 3. Continued

Analyte	Recovery (%)*															
	Broccoli		Carrot		Cabbage		Pumpkin		Apple		Orange		Cucumber		E	
	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	
Triflumizole	92.6	7.1	64.8	9.3	90.6	3.4	84.1	4.1	89.4	3.9	85.6	14.4	61.6	6.2	62	
Triflumizole metabolite	95.6	3.6	94.6	6.8	89.1	7.4	95.7	9.1	100.4	5.7	89.6	6.4	94.1	3.7	79	
Triflumuron	87.6	12.1	74.1	3.6	79.4	8.3	65.2	4.5	90.4	13.8	89.6	11.5	62.8	5.9	61	
Triflusulfuron-methyl	100	10.4	100.4	3.8	94.8	7.6	95.4	3.7	85.7	6.1	96.4	9.0	109.6	5.3	111	

*: Samples were spiked at 50 ng/g of each pesticide. Mean $n=3$

り定量精度を確保する工夫がなされる。しかし、いずれの方法も測定試料ごとに検量線を作成する必要があり、多種類の試料を分析する場合、操作が煩雑になり、適用が難しい。また、内部標準添加法による補正は本研究のように化学的性質の異なる多種類の農薬を分析する際、すべての農薬に対して適用できる内部標準物質を選択することは困難である。そこで、本研究ではミニカラムによる精製と試料溶液を5倍に希釈することでマトリックス効果の低減を図った。

ENVI-Carb カートリッジを用いて精製したブロッコリーブランク抽出液に混合標準溶液を試験溶液中濃度で10 ng/mLになるように添加し、マトリックスによるイオン抑制あるいは増強作用を検討した。その結果、フェンヘキサミドが約250%のイオン増強作用が認められたが、その他の農薬については、90~110%範囲内で検出された。

3.4 試験溶液の組成

試験溶液の溶媒組成について検討した。混合標準溶液を試料（ブロッコリー）中50 ng/gになるように添加し、実験方法 6.1 で述べた試験溶液の調製法のとおり調製した。ENVI-Carb からの溶出液を減圧乾固した残渣にそれぞれ25%メタノール、50%メタノール、メタノールを各10 mL添加し、回収率、ピーク形状について検討した。25%メタノールでは保持時間の遅いフルアジホップ、フルアジホップブチル、ヘキシチアゾクス、フェンピロキシン

メート等の回収率が約45~65%と低くなった。他の2種の溶媒と比較し、試験溶液に溶解しない脂溶性の残渣が多く析出した。回収率の低い農薬はこれらに吸着しているものと考えられた。また、メタノール100%溶液では保持時間の早い比較的極性の高い農薬（オキサミル、メソミル、チアメトキサム）でブロードあるいはリーディングしたピーク形状となった。そこで、本研究では回収率、ピーク形状を考慮し、試験溶液の組成を50%メタノールとした。

4. 選択性の検討

10種の農作物についてブランク抽出液を作製し、妨害ピークの出現を検討した。すべての農薬において、保持時間付近には妨害となるピークはないか、あるいはあっても定量下限値の標準品面積値の1/5以下であり、高い選択性が確認できた。

5. 添加回収実験

3.2の前処理法の検討で3種のカートリッジで共通して良好な回収率が得られた67種とENVI-Carbで90%以上の回収率を示した17種の合計84種の農薬について添加回収試験を行った。あらかじめ農薬が含有していないことを確認した10種の試料に混合標準溶液を50 ng/gとなるように添加したときの回収率を求めた。Table 3に示すように、検討したすべての試料において60~130%の回収率が得られたのは84農薬中80農薬であった。また、70~120%の回収率で得られたのは57農薬であった。回収率が60%以下の農薬としてはメタミトロン、エトキシス

Table 4. Pesticide Residues in Agricultural Products

Sample	Pesticides	Detection level (ng/g)	Monitor ion 2 ^{*1} /Monitor ion 1 ^{*2}	Monitor ion 3 ^{*1} /Monitor ion 1 ^{*2}
Banana 1	Thiamethoxam	8.6	0.49 ^{*3}	0.36
			0.53	0.38
Banana 1	Clothianidin	13.9	0.68	0.25
			0.59	0.38
Pumpkin	Acetamiprid	16.6	0.32	0.16
			0.33	0.18
Cucumber 1	Metalaxyl	6.3	0.98	0.65
Cucumber 2	Metalaxyl	8.2	0.98	0.66
			0.88	0.58
Pineapple	Diuron	5.3	0.68	1.98
			0.79	2.16
Grapefruit 1	Azoxystrobin	8.5	0.30	0.19
Grapefruit 2	Azoxystrobin	9.0	0.31	0.20
Grapefruit 3	Azoxystrobin	11.1	0.31	0.20
			0.26	0.18
Grapefruit 4	Carbaryl	6.2	0.31	0.13
			0.38	0.08

*1 Used for confirmation

*2 Used for quantitation

*3 The values in upper rows were obtained from pesticide residue in agricultural products, and those in lower rows were from pesticide standards.

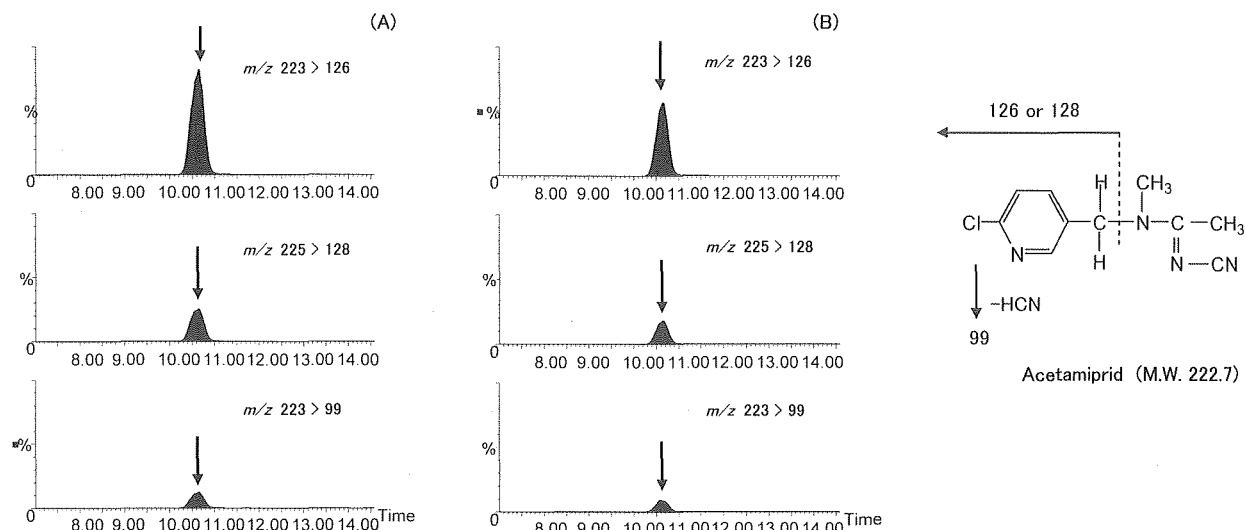


Fig. 1. MRM chromatograms of standard acetamidrid (5 ng/mL) (A), and pumpkin in which 16.6 ng/g of acetamidrid was detected (B)

The arrow indicates the retention time of acetamidrid.

ルフロン, ジメチリモール, イマザリルの4農薬であった。メタミトロン, エトキシスルフロンについてはいずれもにんじん, キャベツ, りんご, オレンジ, きゅうりのような水分含量が高い農作物で回収率が低い傾向であった。これら2つの農薬は $\log P_{ow}$ が1.0前後と検討した農薬の中では比較的水溶性の高いものであり, 試料由来の水分が飽和食塩水を希釈し, 塩析効果に影響を与えたものと推測された。イマザリルとジメチリモールは特に, オレンジおよびりんごで回収率が低かった。これら作物はクエン酸などの有機酸を多く含むため, 農薬が解離状態となり, 抽出時に水層から有機層へ抽出されなかったものと考えられた。良好な回収率の得られた(60~130%)80農薬のRSD(%)は15%未満であり, これらの農薬は, 本法による一斉スクリーニング分析が可能であると考えられた。

6. 実態調査

埼玉県内で市販されていた農作物50検体について本法を用いて残留実態調査を行った。9作物から7農薬が検出されたが, 検出量はいずれも暫定基準値内であった(Table 4)。Fig. 1に16.6 ng/gのアセタミプリドを検出したかぼちゃのクロマトグラムを示した。

7. 確認(定性)試験法としての有用性

実態調査でかぼちゃに残留が認められたアセタミプリドは分子内に1つの塩素原子を有している。塩素は質量数35と37の同位体が約3:1の割合で存在することから, 定量用イオンとして223>126を, 確認用イオンとして225>128をモニターした。標準品での223>126イオンに対する225>128の比は理論値と同様に0.33となった。かぼちゃから検出されたアセタミプリドも0.32と標準品と同様な値となった(Table 4)。そのほか実態調査で実試料から検出された農薬について標準溶液から得られる定量用イオンと確認用イオンの比を比較検討した。Table 4に示すように作物中に残留した農薬と標準品から得られたフ

ラグメント比は検出下限値レベルの残留であっても良く一致した。このことから, 本法は定量法としてのみならず, 同時に確認(定性)試験法としても有用であることが示唆された。

まとめ

LC/MS/MSを用いた農作物中の残留農薬一斉分析法を検討した。

1. 前処理法はアセトン抽出した後, 飽和食塩水とヘキサンの液-液分配, さらにENVI-Carbカートリッジカラムで精製した。
2. LC/MS/MS条件はESI, ポジティブモードを採用した。移動相には酢酸-酢酸アンモニウム-アセトリル系を, カラムにはAtlantis dC18を用い, グラジエント溶出にて分析した。
3. 本法による定量下限値($S/N=10$)は農作物中で5 ng/gであった。50 ng/g濃度の添加回収実験で60~130%の回収率が得られたのは80農薬, 70~120%の回収率で得られたのは57農薬であった。
4. 本法を適用して50農作物について実態調査を行ったところ, 9作物から7農薬が検出された。
5. 今回構築した残留農薬分析法は, 一律基準値の1/2の濃度まで定量可能であると同時に確認方法としても有用であると考えられる。

文献

- 1) Akiyama, Y., Yano, M., Mitsuhashi, T., Takeda, N., Tsuji, M., Simultaneous determination of pesticides in agricultural products by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **37**, 351-362 (1996).
- 2) Nemoto, S., Sasaki, K., Eto, S., Saito, I., Sakai, H., Taka-

- hashi, T., Tonogai, Y., Nagayama, T., Hori, S., Maekawa, Y., Toyoda, M., Multi-residue determination of 110 pesticides in agricultural products by GC/MS (SIM). *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **41**, 233-241 (2000).
- 3) Takeda, K., Ishiguro, Y., Tanaka, R., Maruyama, J., Kasamatsu, T., Okawa, S., Hori, S., Study on the determination of pesticides residues in crops by ion-trap GC/MS/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **43**, 280-288 (2002).
- 4) Kakimoto, Y., Ohtani, Y., Funaki, N., Joh, T., Simultaneous determination of pesticide residues in fruits and vegetables by GC/MS (SCAN mode) and HPLC. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **44**, 253-262 (2003).
- 5) Tanizawa, H., Shima, M., Ikehara, C., Kobata, M., Sato, M., Multi-residue method for screening of pesticides in crops by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **46**, 185-197 (2005).
- 6) Jansson, C., Pihlstrom, T., Österdahl, B.-G., Markides, K. E., A new multi-residue method for analysis of pesticide residue in fruit and vegetables using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A*, **1023**, 93-104 (2004).
- 7) Orтели, D., Edder, P., Corvi, C., Multiresidue analysis of 74 pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Anal. Chimica Acta*, **520**, 33-45 (2004).
- 8) Granby, K., Andersen, J. H., Christensen, H. B., Analysis of pesticides in fruit, vegetables and cereals using methanolic extraction and detection by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, **520**, 165-176 (2004).
- 9) Yamaguchi, Y., Itano, K., Fujita, T., Multiresidue analytical method by LC/MS/MS for pesticides in agricultural products. *Osakasiritu Kankyou Kagaku Kenkyuujo Houkoku (Annual Report of Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences)*, **66**, 11-19 (2004).
- 10) Frenich, A. G., Vidal, J. L., Lopez, T. L., Aguado, S. C., Salvador, I. M., Monitoring multi-class pesticide residues in fresh fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **1048**, 199-206 (2004).
- 11) Klein, J., Alder, L., Applicability of gradient liquid chromatography with tandem mass spectrometry to the simultaneous screening for about 100 pesticides in crops. *J. AOAC Int.*, **86**, 1,015-1,037 (2003).
- 12) Ishii, R., Takegami, H., Takahashi, K., Toya, K., Horie, M., Kikuti, Y., Simultaneous determination of pesticide residues in vegetables and fruits. *Saitamaken Eisei Kenkyusho Hou (Annual Report of Saitama Institute of Public Health)*, **38**, 88-101 (2003).
- 13) Takahashi, K., Ishi, R., Saito, K., Horie, M., Simple method of extraction for pesticides analysis in vegetables and fruits. *Saitamaken Eisei Kenkyusho Hou (Annual Report of Saitama Institute of Public Health)*, **33**, 81-83 (1999).
- 14) 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（一部改正）” 平成 17 年 11 月 29 日，食安発第 1129002 号 (2005).