

# 残留農薬検査における併行精度の変動要因

## —GC-MS/MSによる検討—

### Factors Affecting the Variability of Repeatability in Pesticide Residue Testing -Examination by GC-MS/MS-

樋口 玲奈 千葉 美子 近藤 光恵\*1

Reina HIGUCHI, Yoshiko CHIBA, Mitsue KONDO

GC-MS/MSの更新及び全自動固相抽出装置が整備されたことに伴い、残留農薬検査の妥当性評価を実施したところ、これまでの評価実績と異なり、一部の作物で適合農薬数が添加濃度0.01mg/kgの方が添加濃度0.1mg/kgを上回る結果となった。この事例を精査したところ、添加濃度0.1mg/kgにおける精度がガイドラインの目標値から逸脱している農薬が多かったことから、併行精度に着目し、5回併行測定による添加回収試験を行い、その変動要因について検討を行った。その結果、GC-MS/MSのメンテナンスを含めたコンディションが変動要因となったと推察できる結果が得られた。

キーワード：残留農薬；併行精度；トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計；全自動固相抽出装置

*Key words* : Pesticide residue ; Concurrent accuracy ; GC-MS/MS ;

Fully automated solid-phase extraction system

## 1 はじめに

当センターは、機器の導入や更新に伴い、検査対象品目について標準作業手順書（以下「SOP」という。）を作成するため、妥当性評価を実施している。

令和5年度は、トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計（以下「GC-MS/MS」という。）にてキャベツ、りんご、ほうれんそう、ブルーベリー、スイートコーン、トマト、えだまめ及びぶどうの8つの作物で妥当性評価を行った。このうち5つの作物は添加濃度0.1mg/kgで妥当性ありと評価した農薬数が添加濃度0.01mg/kgで妥当性ありと評価した農薬数を上回っていた。一方、ほうれんそうは添加濃度0.01mg/kgで160農薬、添加濃度0.1mg/kgで149農薬、スイートコーンは添加濃度0.01mg/kgで221農薬、添加濃度0.1mg/kgで184農薬、トマトは添加濃度0.01mg/kgで226農薬、添加濃度0.1mg/kgで208農薬となり、添加濃度0.01mg/kgの農薬数が添加濃度0.1mg/kgの農薬数を上回る結果が得られた。

以前の分析方法との違いは、精製操作がInertSep AL-N/C18/SAX/PSA（100mg/200mg/100mg/100mg）1mLを用いた手動操作から全自動固相抽出装置（以下「ST-L400」という。）を使用した自動操作への変更、及び分析機器の7890B/7000Cから8890/7000Eへの更新であり、一部の作物が影響を受けていることから妥当性評価の結果を精査した。

その結果、ほうれんそう、スイートコーン及びトマトは、精度にお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（最終校正；食安発1224第1号平成22年12月24日）（以下「ガイドライン」という。）を満たさない農薬数が多い傾向にあり、特に日内変動が大きかった。これらのことから併行精度に着目し、5回併行測定による添加回収試験を行い、GC-MS/MSへの注入条件による比較を含めた検討を行ったので報告する。

なお、ほうれんそうはST-L400における精製のメソッドが異なるため、今回の検討からは除外した。

## 2 分析方法

### 2.1 試料

農薬が残留していないことを確認したスイートコーン（冷凍食品）及び農薬8割減栽培のトマトを予冷式ドライアイス凍結粉碎法で処理して試料とした。

### 2.2 標準品

富士フィルム和光純薬（株）農薬混合標準液農・PL-1、農・PL-2、農・PL-3、農・PL-4、農・PL-5、農・PL-6、農・PL-9、農・PL-10、農・PL-11、農・PL-12、農・PL-13及びその他定量に必要な農薬単成分（エスフェンバレレート、 $\alpha$ -BHC、 $\beta$ -BHC、 $\gamma$ -BHC）を使用した。

単成分はアセトンを溶媒として1000 $\mu$ g/mLの標準原液を調製し、20 $\mu$ g/mLに希釈して富士フィルム和光純薬（株）農薬混合標準液20 $\mu$ g/mLとともに、アセトンで1 $\mu$ g/mLに調製したものを農薬混合標準液とした。検量線の調製に用いた溶媒は、100 ng/mL以上はアセトンで希釈し、100 ng/mL未満はアセトン/ヘキサン（3:17）で適宜希釈した。妥当性評価は、検量点0、2、4、6、8、10 ng/mLで行った。

### 2.3 対象農薬

299成分 264農薬（GC-MS/MS測定項目）

\*1 現 北部保健福祉事務所

## 2.4 試薬など

アセトニトリル、アセトン及びヘキサンは、関東化学(株)残留農薬試験・PCB試験用(300倍濃縮)を、塩化ナトリウムは、関東化学(株)残留農薬試験・PCB試験用を、Q-sep QuEChERS抽出塩は、Restek(株)のEN法15662を使用した。

Analyte Protectants (以下「AP」という。)はアセトンを溶媒として、グルコノ-δ-ラク톤は関東化学(株)鹿特級、D-ソルビトールは関東化学(株)鹿1級で調製し、擬似マトリックス溶液として使用した。

また、精製用固相カラムはアイスティサイエンス(株)のSmart-SPE C18-50mg及びSmart-SPE PSA-30mgを使用した。

## 2.5 装置及び測定条件

GC-MS/MSはアジレント・テクノロジー(株)8890/7000Eを、大量注入装置はアイスティサイエンス(株)LVI-S250を、全自動固相抽出装置はアイスティサイエンス(株)ST-L400を使用した。測定条件を表1に示す。

## 2.6 抽出及び精製

農薬混合標準液添加後30分放置した試料を、QuEChERS法の一部を変更してアセトニトリルで10mLと9mLの2回抽出を行い、アセトニトリルで20mLに定容したものを抽出液とした。図1に示す。

精製は、ST-L400を用い、GC-B1法(固相カートリッジ:C18-50mg×2、PSA-30mg)により行った。

## 2.7 妥当性評価

妥当性評価はガイドラインに従い、選択性、真度及び精度(併行精度及び室内精度)について、ガイドラインの目標値に適合するか判定した。添加濃度は0.01mg/kg及び0.1mg/kg(一部の項目については0.02mg/kg及び0.2mg/kg)とし、分析者1名が1日1回(2併行)、5日間の枝分かれ試験を行った。ガイドラインの目標値を表2に示す。

## 3 結果

### 3.1 GC-MS/MSへの注入条件

精製後、アセトン/ヘキサン(3:17)で1mL(試料当たり0.25g)に定容して試験溶液とした。試験溶液40μL又は試験溶液を2倍に濃縮した溶液20μL及びAP1μLをサンドイッチ注入法によりGC-MS/MSに注入し、分析を行った。回収率を100%とした場合の検出濃度は、添加濃度0.01mg/kg試験溶液では2.5ng/mL、添加濃度0.1mg/kg試験溶液では25ng/mLとなる。また、添加濃度0.1mg/kg試験溶液の定量については試験溶液を10倍に希釈して分析するモデルと、希釈せずに高濃度測定用検量線を調製して定量するモデルの2法を比較した。低濃度測定用検量線は検量点0、2.5、5、10ng/mLで行い、高濃度測定用検量線は検量点0、2.5、5、10、25、50、75ng/mLで行った。精製操作フローを図2、注入条件を表3に示す。表中の①～⑥は5回併行測定を行った。

なお、妥当性評価時は、添加濃度0.01mg/kg試験溶液を2倍に濃縮した溶液と、添加濃度0.1mg/kg試験溶液を10倍に希釈した溶液を各20μL注入で測定を行っていた(①と②の組合せ)。

### 3.2 各条件による併行精度の比較

妥当性評価時に併行精度を満足しなかった農薬数は、添加濃度0.01mg/kgにおいてスイートコーンとトマトともに0農薬、添加濃度0.1mg/kgにおいてスイートコーン31農薬、トマト23農薬であったが、今回の測定結果ではいずれもガイドラインの目標値を満たしていた。

添加濃度0.1mg/kgにおいてスイートコーン31農薬及びトマト23農薬の併行精度の平均値を図3に示す。

今回の結果から、40μL注入や添加濃度0.1mg/kg試験溶液は10倍に希釈した方が併行精度は小さい傾向が認められた。

妥当性評価時のGC-MS/MSのコンディションとして、トマトはメンテナンス直前で、JetCleanセルフクリーニングイオン源を使用しているためイオン源の汚れは確認できなかったが、胃袋型インサートはかなり汚れていた。一方、スイートコーンはメンテナンス直後で、GC-MS/MS系内の活性点の影響を受けやすいなど、必ずしも最適とは言えない状態であった。これらが日内変動の大きくなった要因と考えられた。また、⑥のトマトが高値となった原因は、スイートコーンとトマトを続けてメンテナンスを行わずに実施したことにより胃袋型インサートに汚れが蓄積したためと推測された。

## 4 まとめ

妥当性評価時に、添加濃度0.01mg/kgの農薬数が添加濃度0.1mg/kgの農薬数を上回る結果が得られたスイートコーンとトマトにおいて、併行精度に着目し、GC-MS/MSへの注入条件による比較を含めた検討を行った。その結果、妥当性評価時に併行精度を満足しなかった農薬において、いずれもガイドラインの目標値を満たしていた。妥当性評価時は、GC-MS/MSのコンディション不良時に実施していたことから、GC-MS/MSにおけるメンテナンスを含めたコンディションが変動要因となったと推察される。

今後も、GC-MS/MSを常に最適な状態で分析できるようマトリックスの差や起爆注入など活性点に対する条件やインサートの汚れに対する条件などの検討を進めていきたい。

表1 測定条件

|            |   |
|------------|---|
| 装置         | Agilent Technologies 8890/7000E   |
| 分析カラム      | VF-5ms  |
| カラム温度      | 70°C(4min)→25°C/min→150°C(0min)<br>→3°C/min→200°C(0min)<br>→8°C/min→310°C(5min) |
| 注入口温度      | 70°C  |
| 検出器温度      | 280°C   |
| 注入方式       | 大量注入(アイスティサイエンス(株)LVI-S250)   |
| キャリアーガス    | He  |
| 注入量        | 20μL又は40μL  |
| イオン化モード    | EI  |
| 検量線の種類     | 絶対検量線(マトリックス添加)   |
| 添加したマトリックス | Analyte Protectants(AP)   |

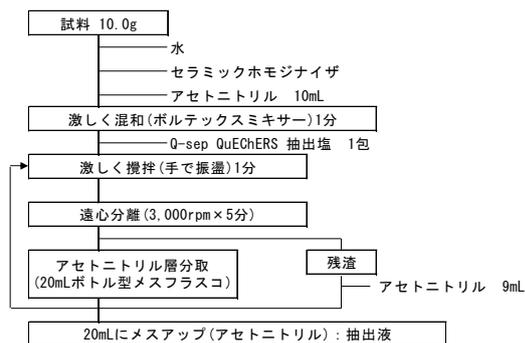


図1 抽出操作フロー

表2 目標値

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

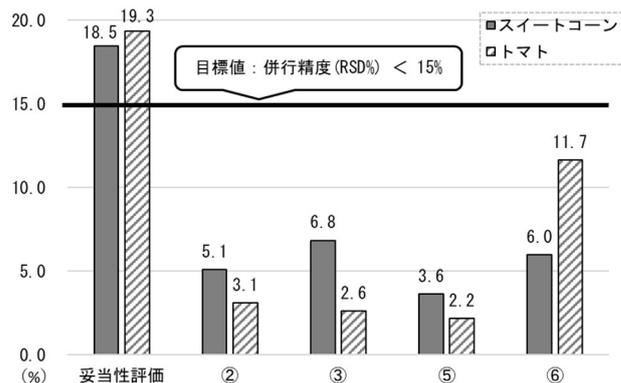


図3 添加濃度 0.1mg/kg におけるスイートコーン 31 農薬及びトマト 23 農薬の併行精度の平均値

5 参考文献

- 1) アイスティサイエンス(株) : STQ 法ガイドブック, 26-29, (2022)
- 2) 新貝 達成、大内 亜沙子、阿部 美和、千葉 美子、大槻 良子 : 宮城県保健環境センター年報, 38, 64-68 (2020)

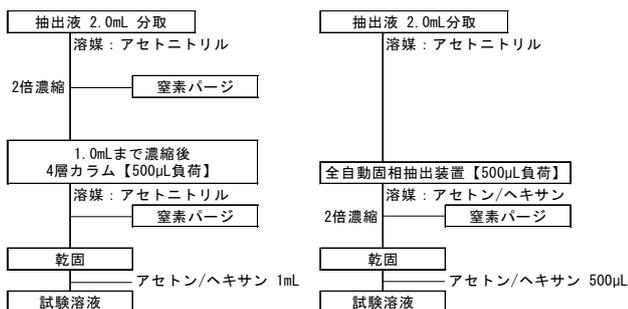


図2 精製操作フロー

表3 注入条件

|   | 添加量        | 試料液  | 注入量   | 希釈倍率 |
|---|------------|------|-------|------|
| ① | 0.01 mg/kg | 2倍濃縮 | 20 µL | —    |
| ② | 0.1 mg/kg  | 2倍濃縮 | 20 µL | 10   |
| ③ | 0.1 mg/kg  | 2倍濃縮 | 20 µL | 1    |
| ④ | 0.01 mg/kg | 原液   | 40 µL | —    |
| ⑤ | 0.1 mg/kg  | 原液   | 40 µL | 10   |
| ⑥ | 0.1 mg/kg  | 原液   | 40 µL | 1    |