

# STQ法とLC-MS/MSを組み合わせた農作物中の残留農薬 高速一斉分析

○朝野夏世<sup>1</sup>、島三記絵<sup>2</sup>、蓮井啓介<sup>3</sup>、宇野由紀<sup>1</sup>、渡辺淳<sup>1</sup> 1 (株)島津製作所 2 (株)アイスティサイエンス 3 京都大学大学院

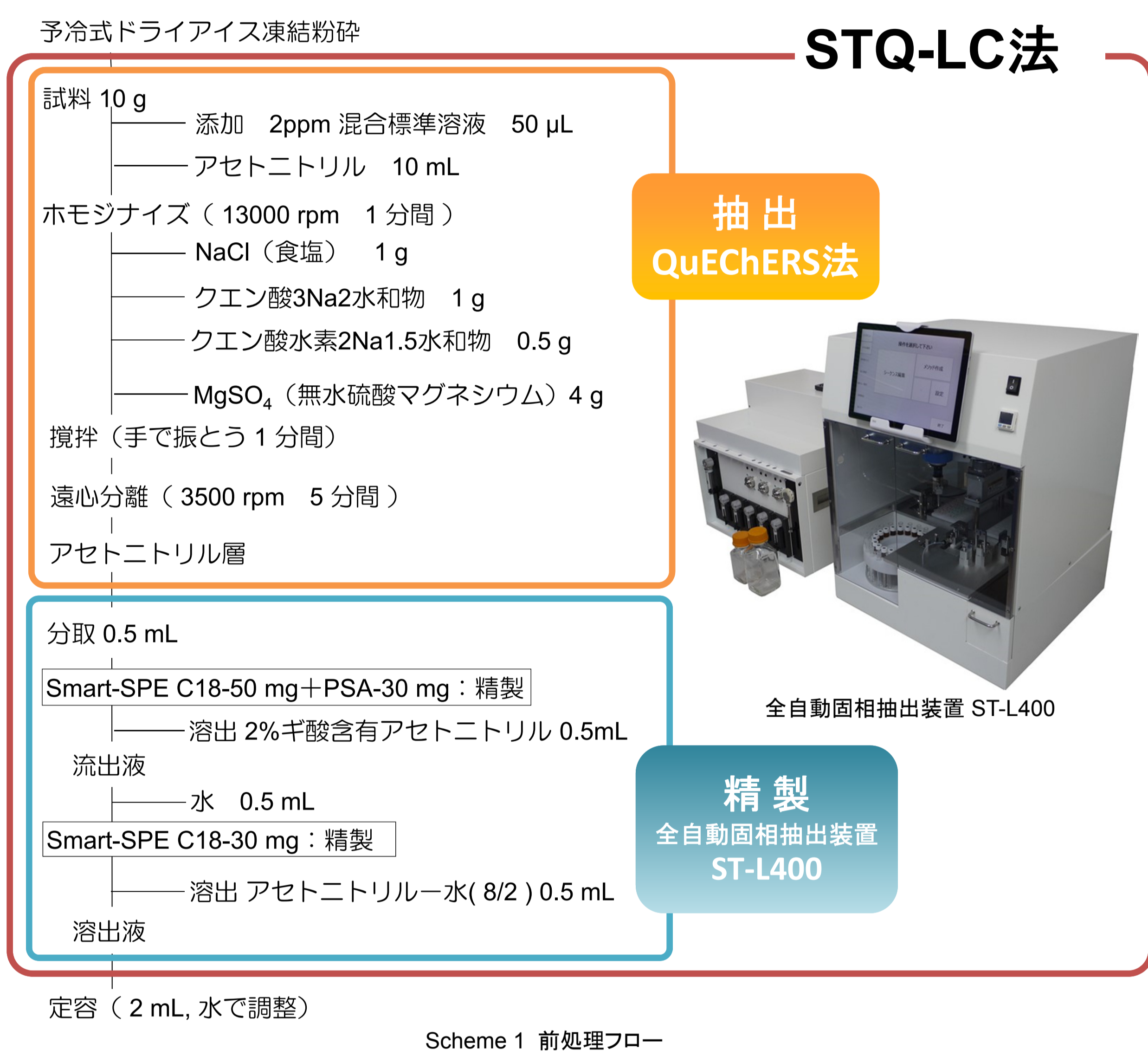
## 1. 背景と目的

近年、食の安全に対する関心が高まり、各地域や各国では食品中の残留農薬を品目ごとに厳しく規定して検査している。規制される農薬や食品が増える中、食品中の残留農薬の分析では「迅速・簡便・高精度」が求められている。分析工程の中で前処理工程(抽出・精製)は労力のかかる工程とされてきた。そこで、迅速・簡便な「QuEChERS法」に精製効果高める「固相カートリッジ精製」を組み合わせたSTQ法(Solid phase extraction Technique with QuEChERS method)により前処理を行うことで、前処理工程の「迅速・簡便・高精度」化を図った。また、LC-MS/MSはその優れた選択性と感度により、食の安全における残留農薬の分析法として広く使用されている。本分析で使用したメソッドはLCMS-8000シリーズの高速極性反転能力を利用したメソッドで、わずか10.5分で農薬約200成分を分析できる。本実験では、STQ法と高速LC/MS/MSメソッドを組み合わせ、残留農薬分析をトータルとして「迅速・簡便・高精度化」できるかを検討した。

## 2. 方法

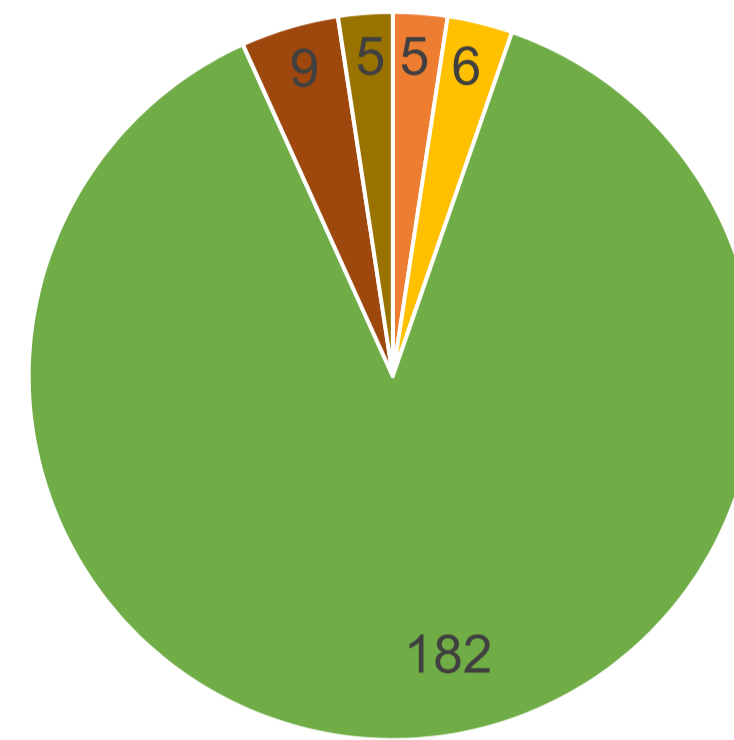
今回の分析系の評価には、夾雑成分を比較的多く含むホウレン草に農薬を添加したものをを使用した。分析には、島津のLC/MS/MSメソッドパッケージ残留農薬Ver.3に収録されているメソッドを使用した。

### 2-1. STQ-LC法による前処理



### 3-1. 添加回収率

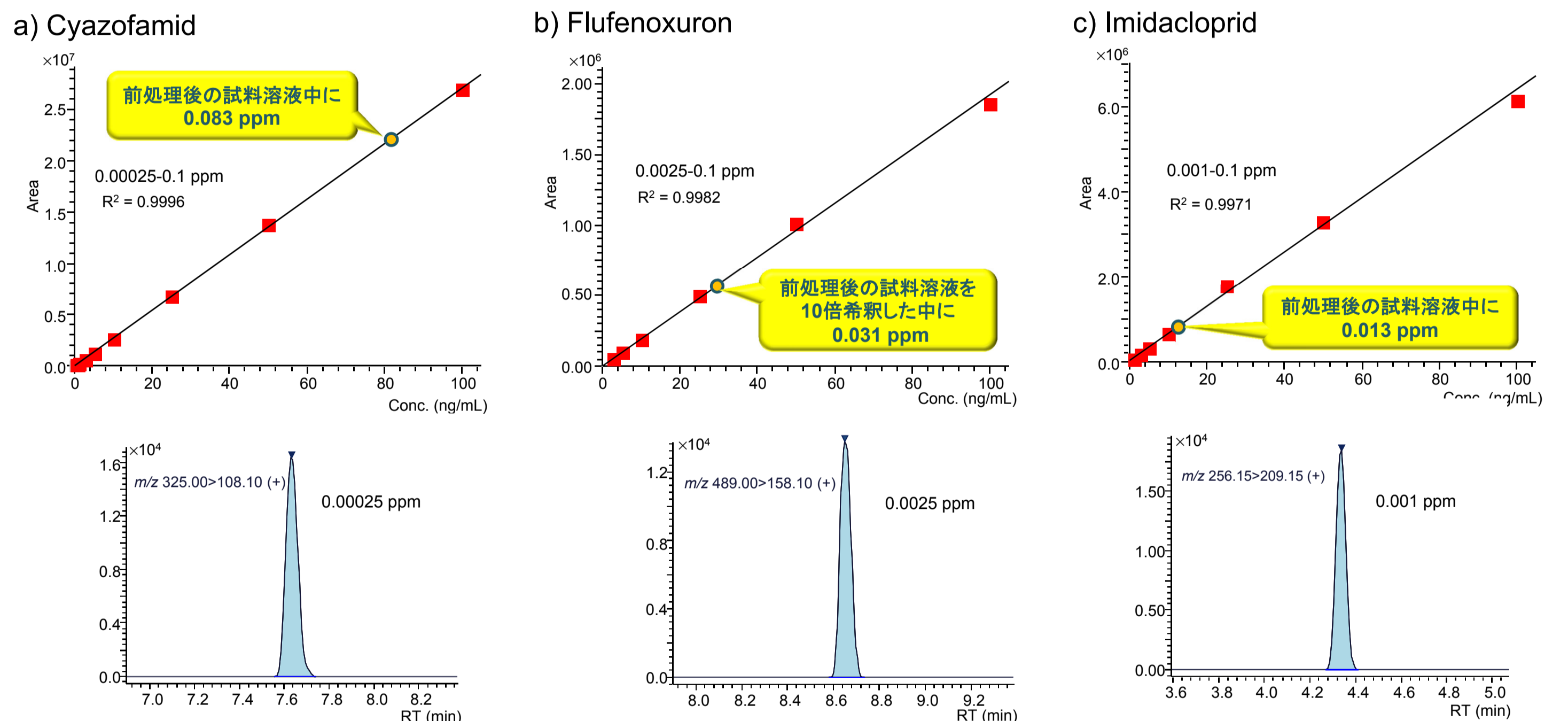
残留農薬207成分を試料あたり0.01 ppm (前処理後の試料溶液中濃度は0.0025 ppm) となるように添加し、添加回収試験を行い、本分析系を評価した。測定した207成分のうち182成分で70-120%の良好な回収率が得られた。(Fig.2) 低回収率となった成分は分解性のものとSilaflofenなどの低極性のものであった。低極性の成分については、本実験で行った前処理のSTQ-LC法は比較的高極性のものを対象にしているため、低極性のものが精製時の最終段階でC18ミニカラムから溶出されずに残ってしまったものと考えられる。全体で95%以上の成分について50-150%の回収率が得られており、本分析系としては良好な結果が得られた。また、厚生労働省の「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、再現性(RSD)が25%未満の成分数を算出した結果をTable 2に示す。207成分中184成分で良好な再現性が得られており、70-120%の良好な回収率が得られた成分の91%以上でRSD 25%未満を達成した。



回収率	%RSD25%未満 (n=5) の成分数
0-50%	5
50-70%	4
70-120%	166
120-150%	8
150%-	1

### 3-2. ホウレン草中に含まれる農薬の定量

今回の実験では、農薬無添加のホウレン草からCyazofamid, Flufenoxuron, Imidaclopridの3成分が検出された。これらの3成分は収穫1~3日前まで散布することが認められている農薬である。Cyazofamid, Flufenoxuron, Imidaclopridの3成分はマトリクス効果の影響が少ないため、標品で作成した検量線を用いて、ホウレン草中に含まれる3成分の濃度を算出した。Fig.3に検量線とLOQ濃度のクロマトグラム、Table 3に定量結果を示す。いずれの農薬も検出された濃度は残留基準値以下であった。



農薬成分	残留基準値	前処理後の試料溶液中濃度	試料中濃度*	使用可能時期	適用害虫・病気
Cyazofamid	25 ppm	0.083 ppm	0.332 ppm	収穫3日前まで	べと病
Flufenoxuron	10 ppm	0.31 ppm	1.24 ppm	収穫3日前まで	ホウレンソウケナゴコナダニ
Imidacloprid	15 ppm	0.013 ppm	0.052 ppm	収穫前日まで	アブラムシ類・ネギアザミウマ

\*本分析ではSTQ-LC法での前処理後の試料溶液中の濃度は4倍希釈となるため、実際の試料中の濃度は「前処理後の試料溶液中濃度×4」となる。

### 2-2. LC/MS/MSによる分析

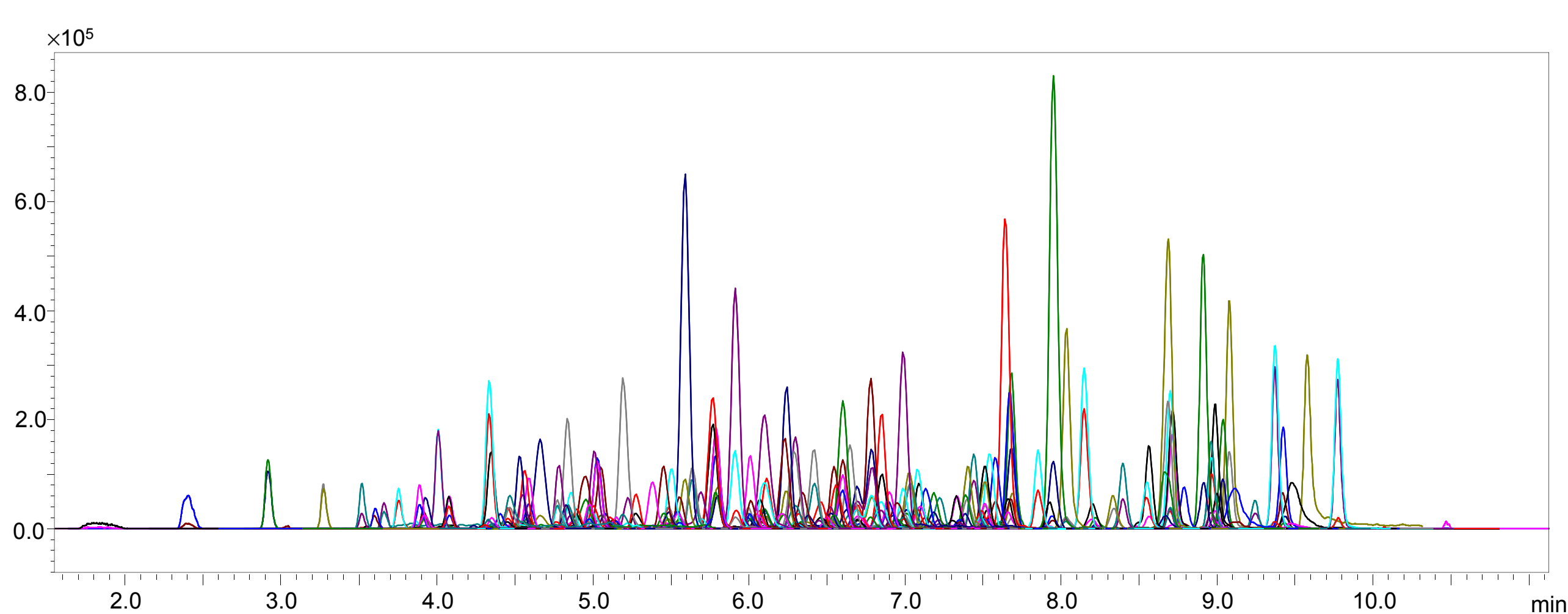
Table 1 分析条件

UHPLC (Nexera X2)	
Analytical Column:	Restek Raptor™ Biphenyl (2.1 mmI.D. x 100 mmL., 2.7 μm)
Mobile Phase A:	2 mmol/L Ammonium formate + 0.002% Formic acid – Water
Mobile Phase B:	2 mmol/L Ammonium formate + 0.002% Formic acid – Methanol
Gradient Program:	3%B (0 min) – 10%B (1 min) – 55%B (3 min) – 100%B (10.5 – 12 min) – 3%B (12.01 -15 min)
Flow Rate:	0.4 mL/min
Column Temperature:	35 °C
Injection Volume:	2 μL (+ 40 μL water)
MS (LCMS-8060)	
Ionization:	ESI positive and negative
Nebulizing Gas Flow:	3 L/min
Drying Gas Flow:	10 L/min
Heating Gas Flow:	10 L/min
Interface Temperature:	300 °C
DL Temperature:	150 °C
HB Temperature:	300 °C
Pause Time:	1 msec
Dwell Time:	1 msec



## 3. 結果

STQ-LC法により前処理し農薬207成分を含むホウレン草溶液を、正負イオン化切替時間 5 msec、データ取込時間 (Dwell time) 1 msecの高速一斉分析メソッドを使って正負イオン同時測定した。Fig.1に示すように、207成分を10.5分以内に検出することができた。本分析系で測定した結果を用いて、添加回収率、定量性、連続分析におけるデータの安定性を評価し、残留農薬分析における本分析系の有用性を検証した。



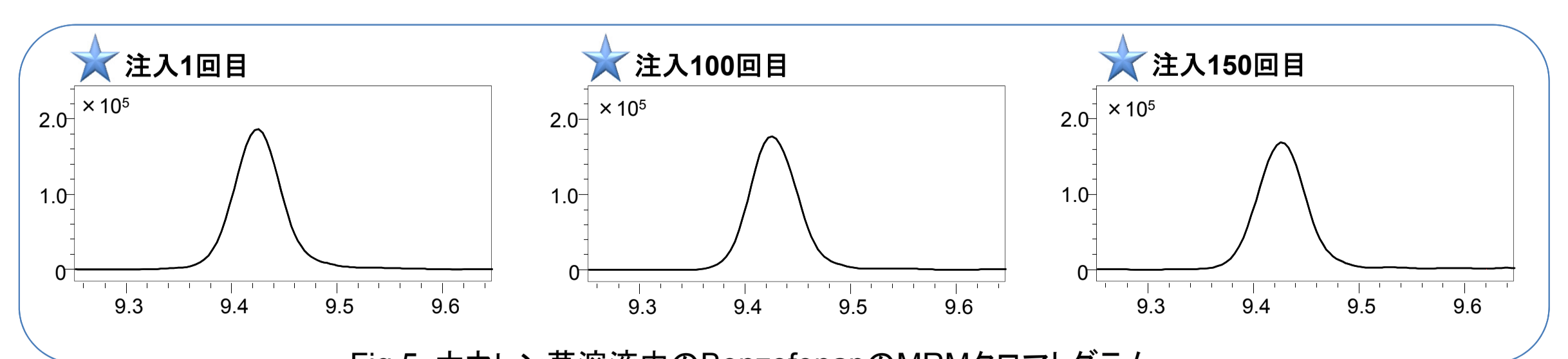
### 3-3. 安定性

LCMS-8060は島津が長年のLC/MS開発で培った堅牢なインターフェースを採用しているため、本実験で使用したホウレン草溶液のように夾雑成分を含む試料の連続分析においても、安定してデータを得ることができる。農薬207成分を添加したホウレン草溶液 (測定試料中の農薬濃度: 0.0025 ppm) を150回連続分析し、農薬7成分について面積値をプロットした結果をFig.4に示す。面積値の大きさにかかわらず、RSD 5%前後という良好な結果が得られた (Table 4)。Fig.5には、Benzofenapの注入1回目、100回目、150回目のMRMクロマトグラムを比較した。

Table 4 ホウレン草溶液中の農薬7成分の面積値再現性 (%RSD)

化合物	m/z	%RSD (n=150)
Monocrotophos	223.90>127.10 (+)	5.52
Acetamidrid	223.10>126.10 (+)	5.81
Hexazinone	253.20>171.20 (+)	4.29
Spiroxamine	298.20>144.20 (+)	6.38
Fenamiphos	304.00>217.10 (+)	5.65
Cyclosulfamuron	422.10>261.00 (+)	5.90
Benzofenap	431.15>105.25 (+)	4.68

Fig.4 ホウレン草溶液中の農薬7成分の面積値プロット



## 4. 結論

- 全自動固相抽出装置ST-L400を使用することで、前処理の迅速・簡便化を図ることができた。
- STQ法で前処理した試料をLC/MS/MSで分析した結果、添加回収率、定量、データの安定性のいずれも良好な結果が得られた。
- STQ法と高速LC-MS/MSメソッドを組み合わせることで、「迅速・簡便・高精度」な残留農薬分析が可能であり、食品中の残留農薬分析に有効であるといえる。