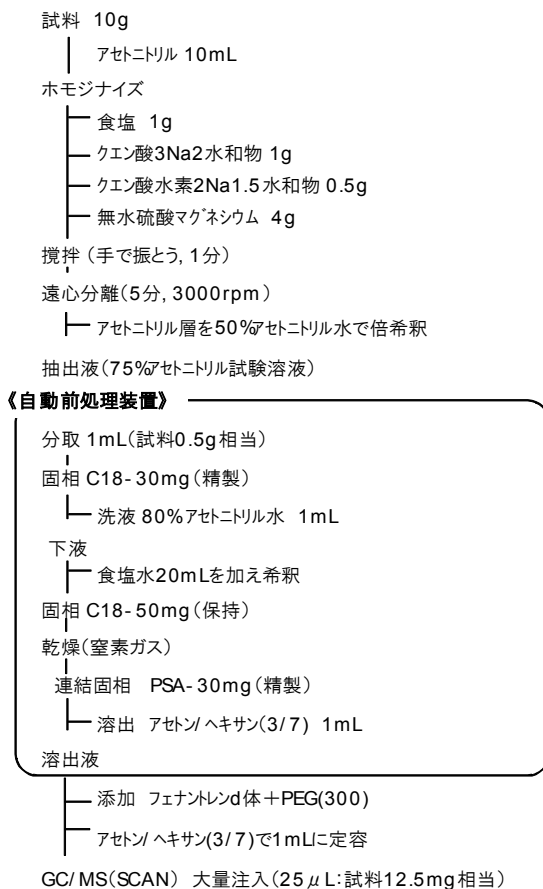


## 自動前処理装置を用いた食品中残留農薬一斉分析法の妥当性評価について

○谷澤春奈<sup>1)</sup>, 佐々野僚一<sup>1)</sup>,  
中村秋香<sup>2)</sup>, 高宮真美<sup>2)</sup>, 鎌倉温子<sup>2)</sup>, 西山佳央里<sup>2)</sup>, 宅間範雄<sup>2)</sup>, 西森一誠<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>株式会社アイスティサイエンス, <sup>2)</sup>高知県衛生研究所

【目的】食品の安全・安心を守るために、食品中の残留農薬分析においては迅速で正確な分析法が求められている。演者らは、抽出操作以降の前処理操作の自動化について検討を行い、固相抽出法を取り入れた自動前処理装置とGC/MS大量注入およびLC/MS/MSを用いた迅速一斉分析法を開発した。本研究では、この自動前処理装置を用い、2機関で本法の妥当性評価を行ったので報告する。

【方法】1. 残留農薬用自動前処理装置：STQ-L200, 固相カートリッジ：SAIKA-SPE (アイスティサイエンス社製) 2. 検討作物：ピーマン 3. 試験溶液の調製法 (GC法)



Scheme 1. 試験溶液の調製法

4. 対象農薬：ポジティブリスト制度GC/MS対象96種；農薬混合標準液22,34 (関東化学社製), ポジティブリスト制度LC/MS対象84種；農薬混合標準液53,54,58 (関東化学社製)

5. 測定装置：GC/MSは大量注入口装置(LVI-S200)を搭載したGC/MS(JMS-Q1000GC)を、LC/MS/MSはAPI3200とQuattro Ultima Ptを用いた。

6. 分析法の妥当性評価：ガイドライン (食安発第1115001号) に基づき、各試験所で真度(回収率)は試料中濃度0.01ppmと0.1ppmの2濃度、精度(併行精度及び室内精度)は分析者2名が1日2回、3日間分析を行い確認した。

### 【結果および考察】

1. 真度(回収率)：GC/MSでは試料中濃度0.1ppmにおいて、回収率が70%未満のものは96種中16種で内12種は共通であり、C18-50mgに保持されにくいマトリクスなどの高極性農薬やGC/MS測定では不安定なカルバメート系農薬であった。低濃度の0.01ppmにおいても同様の傾向がみられた。

2. 精度：回収率が70~120%の農薬では、試料中濃度0.1ppmにおいて2機関ともに3種を除きすべて併行精度が15%未満、室内精度が20%未満、また0.01ppmにおいても1種を除きすべて併行精度が25%未満、室内精度が25%未満と良好であった。

### 【まとめ】

GC/MSで回収率が70%未満であった一部の高極性農薬やカルバメート系農薬については、LC/MS/MSで分析が可能なものもあり、GCとLCを合わせて今回検討した農薬の約8割が本手法での分析が可能であった。



## 自動前処理装置を用いた食品中残留農薬 一斉分析法の妥当性評価について

株式会社アイスティサイエンス ○谷澤春奈 佐々野僚一  
高知県衛生研究所 中村秋香 高宮真美 鎌倉温子 西山佳央里  
宅間範雄 西森一誠

AiSTI SCIENCE



## 目 的

### ■自動前処理装置を用いた残留農薬一斉分析法の妥当性評価

#### ①ガイドライン(食安発第1115001号)に基づき、本法の妥当性評価を行う

- 真度(回収率)：試料中濃度0.01ppm、0.1ppmの2濃度
- 精度(併行精度、室内精度)：分析者2名が1日2回、3日間分析 または  
分析者3名が1日2回、2日間分析
- 選択性：定量を妨害するピークの有無を確認する
- 定量限界：各農薬0.01ppmのピークが、 $S/N \geq 10$ であることを確認する

#### ②機関で、本法の妥当性評価を行う

- 2機関：アイスティサイエンス、高知県衛生研究所

AiSTI SCIENCE



## 対象農薬

### ●ポジティブリスト制 GC/MS対象農薬:96種

製品名	農薬数	濃度
農薬混合標準液 22	50種	10ppm
農薬混合標準液 34	46種	10ppm

### ●ポジティブリスト制 LC/MS対象農薬:下記混合標準溶液の内84種

製品名	農薬数	濃度
農薬混合標準液 53	29種	10ppm
農薬混合標準液 54	28種	10ppm
農薬混合標準液 58	35種	10ppm
農薬混合標準液 22	50種	10ppm

\*いずれも関東化学社製

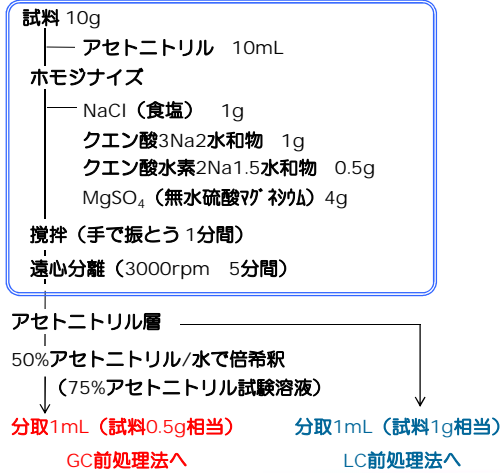
合計 180種

AISTI SCIENCE



## 抽出フロー

### ◎前処理フロー 抽出



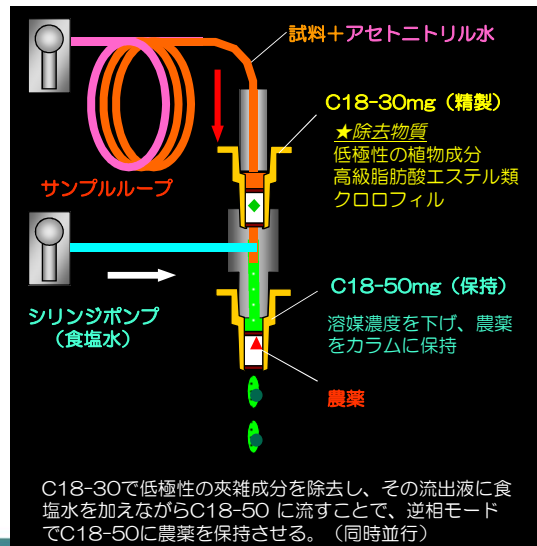
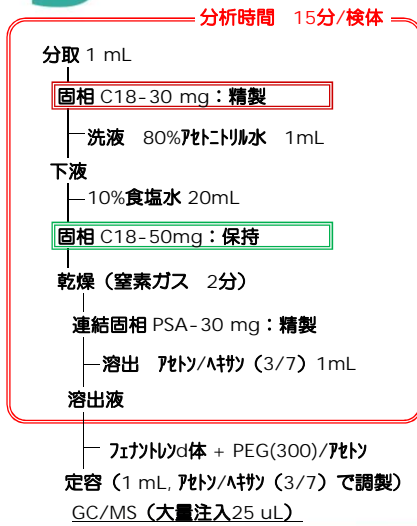
### 抽出



AISTI SCIENCE



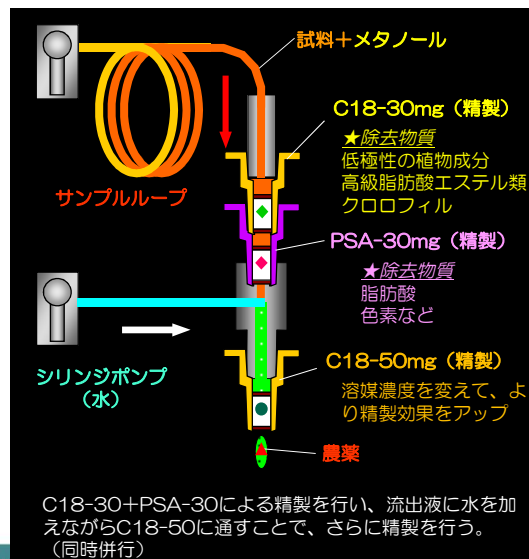
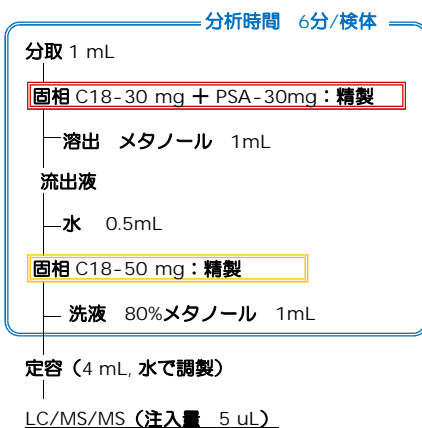
## 自動前処理工程 GC法 精製フロー



AISTI



## 自動前処理工程 LC法 精製フロー



AISTI



## GC/MS測定条件

### 自動前処理装置

使用溶媒

### STQ-L200 (AiSTI Science)

アセトン  
アセトン:ヘキサン (3:7)  
アセトニトリル:水 (80:20)  
水  
食塩水(10%)  
窒素 (圧力 0.6MPa)



乾燥ガス

### GC/MS

PTV Injector

LVI-S200(AiSTI Science); Stomach Insert

Injector Temp.

70°C-120°C/min-240°C-50°C/min-290°C(38min)

Solvent Purge Time

0.3 min

Auto Sampler

CombiPAL; 50 µL Syringe (AMR)

Injection Volume

25 µL

GC

Agilent 6890N

Column

ENV-5MS, 0.25mm i.d. x 30m, df; 0.25mm

Column Oven Temp.

60°C(4min)-20°C/min-160°C-5°C/min-220°C-3°C/min-235°C-7°C/min-310°C(8.3min)

MS

JMS-Q1000GC(JEOL)

MS Method

SCAN; 70 - 450 m/z

AiSTI SCIENCE



## LC/MS/MS測定条件

### 自動前処理装置

使用溶媒

### STQ-L200 (AiSTI SCIENCE)

アセトン, アセトニトリル,  
80%メタノール/水, メタノール  
超純水 (オルガノ)



LC/MS/MS

MS : API 3200 system (AB Sciex), Quattro Ultima Pt (Jasco)

LC : Prominence UFLC(SIMADZU), Alliance 2795 (Waters)

分析カラム

Waters Atlantis®T3(ODS) T3 2.0\*150mm 3.0µm

移動相

A : 0.5mM酢酸アンモニウム水溶液, B : 0.5mM酢酸アンモニウム含有メタノール

グラジエント条件

B conc.(%) ; メソッド①②共通

20%(0-1min)→100%(1-17min)→100%(17-23min)→20%(23-30min)

分析時間

30min

流速

0.2mL/min, 注入量 : 5µL

イオン化モード

ESI Positive

測定モード

MRM (Multiple Reaction Monitoring)

AiSTI SCIENCE



## 真度&精度(GC法)

ピーマン:0.01pm

農薬名	AISTI			高知衛研			農薬名	AISTI			高知衛研		
	真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内		真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内			真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内		真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内	
Acephate	-	-	-	-	-	-	Cyhalothrin-1	104	6	6	95	9	10
Acetamipride	58	-	-	-	-	-	Cyhalothrin-2	101	5	6	94	5	10
Acrinathrin	103	6	7	90	7	9	Cypermethrin-1	93	7	7	85	6	6
Bendiocarb	-	-	-	-	-	-	Cypermethrin-2	93	5	7	101	7	9
Benfuresate	91	11	12	85	4	4	Cypermethrin-3	104	11	12	84	6	7
BHC-alpha	101	4	7	90	6	7	Cypermethrin-4	97	8	9	74	7	7
BHC-beta	98	5	7	91	4	4	Cyproconazole-1	93	8	9	92	5	5
BHC-delta	108	5	6	91	4	4	Cyproconazole-2	103	7	8	102	8	10
BHC-gamma	97	5	6	91	5	5	Deltamethrin	102	6	9	118	4	18
Bitertanol-1	107	5	7	94	3	6	Diazinone	105	4	6	85	4	4
Bitertanol-2	117	6	7	96	4	9	Dichlofluanid	68	16	16	62	9	21
Butylate	97	4	5	85	5	6	Dichlorvos	-	-	-	-	-	-
Cadusafos	106	5	7	95	5	11	Diethofencarb	93	9	11	92	4	6
Captan	141	-	-	248	17	88	Difenoconazole-1	100	7	8	96	3	4
Captan	50	24	24	129	21	36	Difenoconazole-2	97	5	7	93	3	4
Carbaryl	80	-	-	-	-	-	Dimethipin	-	-	-	78	4	4
Chlorfenvinphos-1	109	7	9	108	2	3	Dimethylvinphos-z	108	6	7	95	3	3
Chlorfenvinphos-2	102	7	9	95	7	8	Edifenphos	121	6	9	114	4	5
Chlorobenzilate	108	5	7	106	4	4	EPN	115	8	8	84	4	7
Chlorpropham	108	6	8	91	4	5	EPTC	106	5	7	90	4	5
Chlorpyrifos	100	5	6	85	6	6	Esprocarb	98	5	6	86	7	8
Cyfluthrin-1	166	-	-	97	33	49	Ethiofencarb	76	24	28	-	-	-
Cyfluthrin-2	97	3	4	89	7	7	Ethoprophos	107	5	7	90	3	3
Cyfluthrin-3	95	9	10	94	18	21	Etrinfos	100	4	7	85	4	4
Cyfluthrin-4	90	10	10	97	6	6	Fenarimol	104	7	8	94	2	5

AISTI SCIENCE



## 真度&精度(GC法)

ピーマン:0.01pm

農薬名	AISTI			高知衛研			農薬名	AISTI			高知衛研		
	真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内		真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内			真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内		真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内	
Fenitrothion	111	7	9	93	4	4	Methiocarb	148	12	15	101	6	13
Fenobucarb	96	13	14	84	5	5	Metolachlor	109	6	8	92	4	4
Fensulfotthion	104	12	13	95	5	11	Myclobutanil	106	6	7	95	3	3
Fenthion	100	6	7	83	5	6	p,p'-DDD	96	4	5	89	5	6
Fenvalerate-1	102	8	8	82	5	5	p,p'-DDE	84	5	6	81	7	11
Fenvalerate-2	95	5	5	89	14	16	Paclotbutrazol	102	8	8	90	7	8
Flucythrinate-1	101	5	6	91	5	6	Parathion	109	6	8	93	4	4
Flucythrinate-2	102	6	6	92	4	7	Parathion-methyl	99	5	7	95	4	4
Flusilazole	103	5	7	97	4	5	Pendimethalin	109	5	6	97	6	6
Flutolanil	107	6	8	93	4	4	Permethrin-cis	91	6	6	81	5	5
Fluvalinate-1	94	5	5	88	5	8	Permethrin-trans	93	5	6	83	5	5
Fluvalinate-2	94	5	5	88	5	8	Phenthoate	101	4	7	109	2	15
Fosthiazate-1	54	-	-	54	16	18	Phosalone	112	5	6	109	6	7
Fosthiazate-2	62	21	22	63	10	19	Pirimicarb	-	-	-	-	-	-
Halfeprox	85	4	5	81	5	6	Pirimiphos methyl	98	4	6	87	5	5
Imibenconazole	116	33	34	110	4	5	Pretilachlor	107	5	7	94	4	5
Iprodione	114	6	8	110	2	10	Propiconazole-1	93	4	5	111	4	4
Isofenphos	115	6	6	94	5	5	Propiconazole-2	111	5	8	96	3	17
Isofenphos P=O	109	7	8	97	4	5	Prothiophos	90	5	7	85	6	8
Isoprocarbe	50	31	33	52	12	14	Pyraclufos	104	5	7	92	4	4
Lenacil	-	-	-	-	-	-	Pyridaben	97	5	6	88	8	9
Malathion	112	7	8	91	5	5	Pyridenox-1	71	4	5	79	4	4
Mefenacet	110	6	8	98	4	5	Pyridenox-2	90	3	7	82	3	4
Mepronil	103	5	10	100	5	5	Pyrimidifen	107	5	7	100	3	4
Methamidophos	-	-	-	-	-	-	Pyriproxyfen	99	5	6	87	7	7

AISTI SCIENCE



## 真度&精度(GC法)

ピーマン:0.01pm

農薬名	AISTI			高知衛研			農薬名	AISTI			高知衛研		
	真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内		真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内			真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内		真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内	
Quinolphos	106	5	8	110	6	9	Thenylchlor	95	5	7	105	3	4
Quinomethionate	97	7	7	83	2	4	Thiobencarb	103	5	6	88	4	5
Silaflufen	81	7	8	67	8	9	Thiometon	108	7	7	83	6	7
Tebuconazole	104	6	9	96	2	9	Tolclofos-methyl	93	4	7	85	5	5
Tebuconazole	101	5	6	93	5	5	Triadimenol-1	90	7	8	95	4	8
Tefluthrine	89	6	6	76	6	7	Triadimenol-2	106	10	11	89	5	8
Terbufos	99	4	5	85	6	7	Tricyclazole	87	4	6			

\* - : 回収率50%未満は数値化せず

## 2濃度における真度&精度の分布(GC法)

成分数:114成分

		AISTI			高知衛研		
		0-70	70-120	120以上	0-70	70-120	120以上
0.01 ppm	回収率	13	97	4	15	97	2
	併行精度<25%	3	95	2	5	96	2
	室内精度<30%	3	95	2	5	96	0
0.1 ppm	回収率	14	100	0	17	97	0
	併行精度<15%	0	98	0	7	96	0
	室内精度<20%	0	100	0	7	96	0

AISTI SCIENCE



## 真度&精度(LC法)

ピーマン:0.01pm

農薬名	AISTI			高知衛研			農薬名	AISTI			高知衛研		
	真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内		真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内			真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内		真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内	
Acephate	92	4	5	56	8	16	Cyflufenamid	88	5	5	92	9	9
Acibenzolar-S-methyl	157	7	25	-	-	-	Cyprodinil	94	6	6	88	8	9
Anilofos	94	5	5	89	7	8	Diallate	94	7	7	92	9	11
Aramite	96	4	5	94	10	11	Diffubenzuron	70	23	23	86	9	9
Azamethiphos	-	-	-	97	10	11	Dimethirimol	76	3	3	72	10	13
Azoxystrobin	86	3	4	90	10	11	DimethomorphE	80	3	4	83	9	12
Bendiocarb	124	3	15	92	11	11	DimethomorphZ	72	3	3	80	9	10
Benzofenap	90	2	2	90	9	9	Diuron	80	4	5	87	9	10
Boscalid	66	4	6	81	8	11	Dymuron	90	4	4	84	9	12
Butafenacil	96	4	5	91	11	11	Epoxiconazole	78	5	5	90	9	9
Carbaryl	92	2	5	81	9	9	Fenamidon	71	5	6	77	11	11
Carbofuran	93	3	4	96	9	10	Fenobcarb	102	4	4	92	11	11
Carpropamid	92	11	11	90	8	9	Fenoxaprop-ethyl	-	-	-	84	8	10
Chloridazon	72	4	5	77	10	10	Fenoxycarb	92	5	5	86	9	9
Chloroxuron	86	3	4	86	10	11	FenpyroximateE	86	3	3	75	10	11
Chromafenozide	83	4	5	88	12	12	FenpyroximateZ	87	3	4	75	10	11
Clofentezine	83	5	6	91	8	9	FerimzoneE_Z	85	3	4	83	9	11
Ciomeprop	89	6	7	88	9	10	Flufenacet	92	4	5	91	11	12
Cloquintocet-mexyl	95	2	2	89	9	9	Flufenoxuron	80	4	5	76	11	12
Clothianidin	92	5	5	93	10	12	Fluridon	80	4	5	89	9	9
Cumyruon	84	4	4	88	9	11	Furametpyr	87	3	3	87	10	13
Cycloate	99	11	11	92	7	8	Furathiocarb	94	4	4	93	9	10

AISTI SCIENCE



## 真度&精度(LC法)

ピーマン:0.01pm

農薬名	AISTI			高知衛研			農薬名	AISTI			高知衛研		
	真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内		真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内			真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内		真度(%) 回収率	精度RSD(%) 併行 室内	
Hexythiazox	85	4	5	73	7	9	Phenmedipham	273	4	43	86	8	9
Imazanil	85	4	4	84	11	12	Primicarb	94	2	3	77	9	12
Imidacloprid	122	5	7	94	9	9	Propaquizafop	91	6	6	79	9	10
Indanofan	88	5	6	75	8	11	Pyraclostrobin	94	9	9	93	9	9
Indoxacarb	102	7	7	101	9	9	Pyrazolynate	492	3	47	93	9	9
Iprovalicarb	90	3	3	91	9	9	Pyrifthalid	89	3	3	90	10	11
Isoxaflutole	189	3	30	88	9	9	Quazalofop-ethyl	86	3	3	66	7	15
Lactofen	100	6	7	87	12	13	Simeconazole	77	4	7	82	9	9
Linuron	88	8	8	89	9	10	Spinosyn_A	76	4	4	67	11	12
Mepanipyrim	84	9	9	83	8	11	Spinosyn_D	66	4	5	53	9	12
Methabenzthiazuron	84	2	3	85	10	13	Tebufenozide	112	4	5	97	9	10
Methamidophos	58	4	9	48	8	13	Tebuuthiuron	76	3	4	81	11	12
Methiocarb	88	5	5	85	9	10	Teflubenzuron	88	5	5	97	8	8
Methomyl	113	6	6	99	11	12	Tetrachlorvinphos	80	3	3	94	8	9
Methoxyfenozide	82	2	3	83	11	12	Thiabendazole	83	2	2	82	10	10
Monolinuron	93	4	5	86	8	9	Thiacloprid	91	2	3	90	11	11
Naproanilid	88	5	6	84	9	10	Thiamethoxam	103	4	5	88	10	10
Novalron	86	3	4	87	10	12	Thiodicarb	87	3	8	90	11	12
Oxamyl	112	3	4	102	11	12	Trailoxymidim	70	8	11	94	11	12
Oxaziclomefone	94	3	3	93	9	9	Triflumuron	86	4	5	92	8	8
Oxycarboxin	125	3	12	92	11	12	Triticonazole	80	5	6	82	11	12
Pencycuron	88	3	3	88	9	10							

\* - :回収率50%未満は数値化せず

AISTI SCIENCE



## 2濃度における真度&精度の分布(LC法)

成分数:87成分

		AISTI			高知衛研		
		0-70	70-120	120以上	0-70	70-120	120以上
0.01 ppm	回収率	5	75	7	6	81	0
	併行精度<25%	3	75	3	4	81	0
	室内精度<30%	3	75	3	4	81	0
0.1 ppm	回収率	5	78	4	11	76	0
	併行精度<15%	5	78	1	8	76	0
	室内精度<20%	5	78	1	8	76	0

AISTI SCIENCE





## 選択性 & 定量限界

### ■ 選択性

ピーマンの妨害ピークが、定量限界濃度(0.01ppm)に相当するピーク面積値の1/3未満であることを確認する

- GC → キャプタン, カプタホール, シフルトリン-1が× (妨害ピークが1/3以上)
- LC → すべてOK

### ■ 定量限界

各農薬で一律基準値0.01ppmに相当する濃度におけるピークが、 $S/N \geq 10$ であることを確認する

- GC → カプタホールのみ×
- LC → すべてOK

AISTI SCIENCE



## まとめ

自動前処理装置を用いた本法を、2機関(アイスティサイエンス・高知県衛生研究所)でガイドラインに基づき、ピーマンで妥当性評価を行った。

### ■ 真度(回収率), 精度(併行精度・室内精度)について

GC法では、0.01ppmでバリデーションが取れた農薬は、114成分中AISTIで95成分、高知衛研で96成分、0.1ppmではAISTIで98成分、高知衛研で96成分であった。

LC法では、0.01ppmでバリデーションが取れた農薬は、87成分中AISTIで75成分、高知衛研で81成分、0.1ppmではAISTIで78成分、高知衛研で76成分であった。

### ■ 選択性, 定量下限について

LC法は、AISTI・高知衛研ともに測定装置は異なったが、すべてクリアできた。GCで分解性の高いキャプタンやカプタホール、またシフルトリン-1は妨害ピークと重なり、ピーマン中では選択性がとれず分析ができなかったが、それ以外の農薬はすべてクリアできた。

GC法で低回収率であった農薬は、高極性農薬やカルバメート系農薬が多く、これらの農薬はLC法でほとんど分析が可能であった。2機関で妥当性評価を行った結果、GC法・LC法ともに、ほぼ同じ結果が得られ、自動化装置を用いた本法は、分析機関が異なっても精度が取れる方法であることが証明できた。

AISTI SCIENCE