

食品中に残留する農薬の試験法－質量分析による迅速スクリーニング技術

Method of Test for Pesticide Residues in Foods - Rapid Screening Mass Spectrometry Technique

1. 適用範囲：

- 1.1. 本試験法は野菜・果実類、穀類、豆類、茶類、香辛植物、その他草本植物等の食品におけるアバメクチン(abamectin)等、191項目に適用される残留農薬の多成分一斉迅速スクリーニング分析である。
- 1.2. 本試験法は特定の農薬及び食品マトリックスにのみ適用され、公定法ではない。農作物の生産・販売及び食品事業者が特定化学物質に対して自主管理を行う時の参考として提供し、仮に本試験法の結果と公定法での結果で相違がある場合は、後者を基準とする。

2. 試験法： 試料は農薬迅速抽出カートリッジ(Fast Pesticide Extraction Cartridge, FaPEX[®]) で前処理をした後、液体クロマトグラフタンデム質量分析装置(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC/MS/MS)及び質量分析データ自動化クラウドコンピューティングプログラム分析、または手動分析を用いる。

2.1. 装置：

2.1.1. 液体クロマトグラフタンデム質量分析装置：

2.1.1.1. イオン源：エレクトロスプレーイオン化法(electrospray ionization, ESI)。

2.1.1.2. カラム管：CORTECS UPLC[®]、C18、1.6 µm、内径2.1 mm × 5 cm、または同等品。

2.1.2. ブレンダー(Blender)。

2.1.3. グライNDER(Grinder)。

2.1.4. ボルテックスミキサー(Vortex mixer)。

2.1.5. 窒素エバポレーター(Nitrogen evaporator)。

- 2.2. 試薬：氷酢酸、ギ酸、酢酸アンモニウムは試薬特級を用いる。アセトニトリル及びメタノールは、HPLC用を用いる。脱イオン水(25℃で比抵抗が18 MΩ・cm以上)。農薬試験用アバメクチン(abamectin)標準品等、191項目(項目は表一及び表二を参照)。

2.3. 器具及び材料：

2.3.1. 遠心管：15 mL、PP製。

2.3.2. フィルター：孔径0.22 µm、PTFE製。

2.3.3. メスフラスコ：25 mL及び50 mL、茶色。

2.3.4. プラスチックシリンジ：10 mL、PP製。

2.3.5. 農薬迅速抽出カートリッジI：FaPEX-gen.、試料溶液負荷量5 mL、または同等品。

2.3.6. 農薬迅速抽出カートリッジII：FaPEX-chl.、試料溶液負荷量5 mL、または同等品。

2.3.7. 農薬迅速抽出カートリッジIII：FaPEX-cer.、試料溶液負荷量5 mL、または同等品。

2.3.8. 農薬迅速抽出カートリッジIV：FaPEX-dry.、試料溶液負荷量5 mL、または同等品。

2.4. 1%酢酸含有アセトニトリル溶液の調製：

酢酸10 mLとアセトニトリル990 mLを均一に混ぜる。

2.5. 移動相の調製：

2.5.1. 移動相A：

酢酸アンモニウム0.4 gを脱イオン水に溶解して1000 mLとし、ギ酸1 mLを加えて均一に混ぜる。フィルターでろ過し、ろ液を移動相Aとする。

2.5.2. 移動相B：

酢酸アンモニウム0.4 gをメタノールに溶解して1000 mLとし、フィルターでろ過し、ろ液を移動相Bとする。

2.6. 標準溶液の調製：

農薬試験用標準品をそれぞれ約25 mg正確に採取し、適切な溶媒で溶解して25 mLに定容し、標準原液とし、-18℃で遮光保存する。適量の標準原液をアセトニトリルで0.05 µg/mLに希釈し、標準溶液とする。

2.7. 試料溶液の調製：

2.7.1. 試料の前処理：

野菜・果実類の試料は切った後、ブレンダーで均質化する。穀類、豆類、茶類、香辛植物等、乾燥した試料はグラインダーで磨砕する。均質化後、適量の試料を取り、下記の抽出及び精製を進める。当日中に分析できない場合は、-20℃で保存するものとする。

2.7.2. 水分含量が高い野菜・果実類、香辛植物、その他の草本植物(生鮮食品)：

均質化した試料を約1 g 正確に採取し、遠心管に入れ、1%酢酸含有アセトニトリル溶液5 mLを加え、遠心管に蓋をして30秒間振り混ぜ、抽出液を農薬迅速抽出カートリッジI(下部にフィルター装着)に注入し、毎秒1滴の割合で流下させ、集めた流出液を試料溶液とする。

2.7.3. クロロフィル含量が高い野菜・果実類、香辛植物、その他の草本植物(生鮮食品)：

均質化した試料を約1 g 正確に採取し、遠心管に入れ、1%酢酸含有アセトニトリル溶液5 mLを加え、遠心管に蓋をして30秒間振り混ぜ、抽出液を農薬迅速抽出カートリッジII (下部にフィルター装着)に注入し、毎秒1滴の割合で流下させ、集めた流出液を試料溶液とする。

2.7.4. ワックス、油脂、糖質含量が高い野菜・果実類、香辛植物、その他の草本植物(生鮮食品)、豆類、穀類：

均質化した試料を野菜・果実類、香辛植物、その他の草本植物(生鮮食品)は約1 g、乾燥豆類及び穀類は約0.5 gを正確に採取し、遠心管に入れる。乾燥豆類及び穀類は脱イオン水1 mLを加え、混ぜてから10分間静置する。1%酢酸含有アセトニトリル溶液5 mLを加え、遠心管に蓋をして30秒間振り混ぜ、抽出液を農薬迅速抽出カートリッジ III (下部にフィルター装着)に注入し、毎秒1滴の割合で流下させ、集めた流出液を試料溶液とする。

2.7.5. 茶類、香辛植物、その他草本植物(乾燥)：

均質化した試料を約0.5 g 正確に採取し、遠心管に入れ、脱イオン水1 mLを加え、混ぜてから10分間静置する。1%酢酸含有アセトニトリル溶液5 mLを加え、遠心管に蓋をして30秒間振り混ぜ、抽出液を農薬迅速抽出カートリッジIV (下部にフィルター装着)に注入し、毎秒1滴の割合で流下させ、集めた流出液を試料溶液とする。

2.8. スクリーニングと含量測定：

2.8.1. 試料溶液及び0.05 µg/mLの標準溶液をそれぞれ5 µLずつ正確に採取し、液体クロマトグラフタンデム質量分析装置にそれぞれ注入する。下記の条件に基づいて分析を進め、試料溶液とそれぞれの農薬標準品の保持時間とピーク面積から濃度測定と定量を行う。

液体クロマトグラフタンデム質量分析測定条件^(注)：

カラム管：CORTECS UPLC[®]、C18、1.6 µm、内径2.1 mm × 5 cm。

カラム管温度：40℃。

移動相：A液とB液は下記の条件でグラジエント分析を行う。

時間(min)	A (%)	B (%)
0.0 → 0.1	99 → 50	1 → 50
0.1 → 1.5	50 → 30	50 → 70
1.5 → 2.5	30 → 1	70 → 99
2.5 → 4.0	1 → 1	99 → 99
4.0 → 4.1	1 → 99	99 → 1
4.1 → 5.0	99 → 99	1 → 1

移動相流量：0.7 mL/min。

注入量：5 µL。

インターフェース電圧(Interface voltage)：1 kV。

インターフェース温度(Interface temperature)：250℃。

霧化ガス流量(Nebulizing gas flow)：3 L/min。

加熱ガス流量(Heating gas flow)：15 L/min。

脱溶媒温度(DL temperature)：250℃。

ヒートブロック温度(Heat block temperature)：350℃。

乾燥ガス流量(Drying gas flow)：5 L/min。

測定モード：マルチプルリアクションモニタリング(multiple reaction monitoring, MRM)。

イオンペア測定、Q1/Q3フォーカス電圧(Q1/Q3 Pre Bias)とコリジョンエネルギー (collision energy)は表一及び表二の通り。

注：上述の測定条件が分析に適さない場合、使用する装置に応じて、適切な測定条件を設定する。

2.8.2. 質量分析データ自動化クラウドコンピューティングプログラム分析：

行政院農業委員会農業薬物毒物試験所(以下「薬毒所」という)の質量分析データクラウドコンピューティングプログラム^(注1)を用いて、定性測定、含量測定、結果判定を以下の方法で進める。

2.8.2.1. 各試料群の添加順序は0.05 µg/mL標準溶液、ブランク溶媒、1～10の試料溶液、ブランク溶媒とする。各グループは前述の添加順序または実際の品質保証要件に基づいて調整し、2.8.1.の条件に従って分析する。

2.8.2.2. 分析装置で生成されたソースコードデータ(0.05 µg/mL標準溶液及び前述の添加順序の試料溶液)は、薬毒所のスケジューラを通して薬毒所の質量分析プログラムクラウドサーバーへ送信され、薬毒所の質量分析プログラムを経て装置のソースコードを解析し、農薬ごとの定性及び定量イオンクロマトグラムを生成し、試料溶液と標準溶液で得られたピークの保持時間及びマルチリアクションモニタリングにおけるイオンの相対強度^(注2)で定性測定を行う。確認後は面積積分に基づいて、試料溶液中の各農薬濃度を算出し、試験法の希釈倍率に基づいて試料中濃度^(注3)を自動換算する。薬毒所「迅速検査データクラウドサービスプラットフォーム」で試料名を入力すると、システムが衛生福利部公表の残留農薬許容基準値と自動的に比較し、合否判定を行う^(注4)。

注1：装置付属の定量分析ソフトウェアを使用して分析することも選択できる。

注2：イオンの相対強度は定性イオン比のピーク面積と定量イオン比のピーク面積で除算して得られる(100%)。初回スクリーニングの許容範囲は以下の通り。

イオンの相対強度(%)	許容範囲(%)
> 50	± 40
> 20~50	± 40
> 10~20	± 40
≤ 10	± 40

注3：回収率が悪く(≤60%)、変動係数が妥当な範囲内(≤ 30%、試験濃度に基づき決定)にある農薬については、回収率の補正を行うか否かを評価する必要がある(表一、表二で注*のついた定量限界)。

注4：スクリーニングテストで不合格と判定された試料または合格したが検出値が残留農薬許容基準50%以上の試料は、公定法に基づいて再度検査を進めるものとする。

注記：1. 本試験法の定量限界は表一及び表二の通り。

2. 本試験法は、野菜・果実類及び穀類に含まれるビフェナゼート(Bifenazate)の検査には適さない。茶類、香辛植物、その他草本植物(乾燥)に含まれるフロニカミド(Flonicamid)及びピメトロジン(Pyrethrin)の検査には適さない。

3. 試料に検査結果に影響を及ぼす物質が含まれる場合、自ら調査するものとする。

参考文献

1. European Committee for Standardization. 2009. Food of plant origin-determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE-QuEChERS-method. DIN EN 15662: 2009-02 (English version).
2. Chuang, W. C., Chen, J. W., Huang, C. H., Shyu, T. H. and Lin, S. K. 2019. The FaPEX[®] multi-pesticide residues extraction kit for minimizing sampl preparation time in agricultural products. J. AOAC Int. Vol. 102. In

press.