

[ノート]

## LC-MS/MS を用いた残留農薬一斉分析法における移動相の影響

赤松 成基\* 後藤 操 今井 史 藤田 裕代

Study on a Mobile Phase pH  
in Multi-residue LC-MS/MS Method for Pesticides

Shigeki AKAMATSU\*, Misao GOTOU, Fumi IMAI and Yasuyo FUJITA

*Health Science Research Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health Science,  
1819-14, Kanno, Kanno-cho, Kakogawa 675-0003, Japan*

A mobile phase pH of multi-residue method for 125 pesticides in agricultural products by LC-MS/MS was discussed. The pesticides in the mix standard solution were determined with three different pH of the aqueous mobile phases : 10 mM ammonium acetate (pH 6.7), 0.01% formic acid (pH 3.2) and 0.04 mM aqueous ammonia (pH 9.0). The peak intensity for some pesticides increased significantly in the acidic or alkaline solution as aqueous mobile phase, compared with the neutral condition. The matrix effect in three agricultural products such as banana, lettuce and radish, was examined. The peak area ratios of over 80% pesticides in each mobile phase were 0.5-1.5 with the difference among agricultural products.

## I はじめに

わが国では、2006年に食品中に残留する農薬等に関してポジティブリスト制度が施行され、より多くの農薬等を対象とした迅速かつ効率的な多成分一斉分析法が求められてきた。これまで厚生労働省からの通知試験法や告示試験法のほか、国内外の各試験機関から様々な試験法が報告されている<sup>1-4)</sup>。その中で、LC-MS/MSは選択性が高く、高感度な装置であるため、近年食品分析分野で多くの試験法で用いられており、残留農薬の一斉分析法においても必要不可欠なものとなっている。

LC-MS/MS法では、国内における通知試験法の一斉試験法に代表されるようにオクタデシルシリル化シリカゲルカラム(C18カラム)を用いて、酢酸アンモニウム等

の中性付近の緩衝液を水系移動相として測定することが一般的である<sup>5)</sup>。しかし、近年耐アルカリ性のカラムを用いて、水系移動相をアルカリ性の溶離液とすることで、検出感度の向上やピーク形状の改善が見られたとする報告も散見される<sup>6,7)</sup>。

本研究では、125種の農薬成分について、適用pH範囲が弱酸性から弱アルカリ性の汎用C18カラムを用いて、水系移動相に異なるpHをもつ3種類の移動相でそれぞれ分析し、移動相の違いによる各成分の検出強度等について調査した。さらに、バナナ、レタス及びだいこんの3種類の農産物の試験液を用いて、マトリックスの各成分への影響についても調査した。

Table 1 LC/MS/MS parameters

Compound	RT (min) <sup>a)</sup>	MRM transition ( <i>m/z</i> )	CV (V) <sup>b)</sup>	CE (eV) <sup>c)</sup>	Compound	RT (min) <sup>a)</sup>	MRM transition ( <i>m/z</i> )	CV (V) <sup>b)</sup>	CE (eV) <sup>c)</sup>
<Positive mode>					Triticonazole	11.3	318 > 70	5	20
Methamidophos	1.2	142 > 94	10	15	Pyrifthalid	12.3	319 > 139	42	25
Methomyl	3.1	163 > 106	15	10	Iprovalicarb	11.9	321 > 119	19	16
Acephate	1.2	184 > 143	10	10	Clomeprop	16.5	324 > 120	41	20
Carbendazim	4.7	192 > 160	30	15	Flutolanil	13.4	324 > 65	25	35
Pyrimethanil	11.6	200 > 107	25	24	Cyazofamid	14.3	325 > 108	25	15
Dinotefuran	1.9	203 > 129	20	10	Azamethiphos	7.7	325 > 112	31	35
Fenobucarb	11.4	208 > 95	25	15	Flumetsulam	2.2	326 > 129	46	25
Propachlor	10.3	212 > 170	31	14	Pencycuron	15.5	329 > 218	30	16
Aldicarb	6.6	213 > 89	35	20	Epoxiconazole	12.2	330 > 121	15	22
Omethoate	1.4	214 > 183	25	10	Fluridon	11.3	330 > 310	66	30
Monolinuron	9.6	215 > 126	15	15	Tralkoxidym	11.7	330 > 138	31	19
Pymetrozine	2.1	218 > 105	15	20	Carpropamid	14.6	334 > 139	22	18
Thidiazuron	7.0	221 > 94	10	15	Furametpyr	9.3	334 > 157	36	30
Methabenzthiazuron	8.6	222 > 165	10	15	Cloquintocet-mexyl	16.6	336 > 238	30	16
Chloridazon	4.7	222 > 77	56	30	Clodinafop-propargyl	14.8	350 > 266	36	16
Carbofuran	8.4	222 > 165	5	10	Pentrazamide	15.1	350 > 154	14	12
Acetamiprid	5.3	223 > 126	30	20	Tebufozide	14.0	353 > 133	10	10
Aldicarb sulfone	2.6	223 > 86	35	14	Thiodicarb	8.2	355 > 88	17	16
Mepanipyrim	13.1	224 > 106	15	25	Clethodim	10.4	360 > 164	25	20
Bendiocarb	8.4	224 > 167	15	10	Penthiopyrad	14.4	360 > 177	30	47
Cyprodinil	14.3	226 > 93	5	35	Fenoxaprop-ethyl	16.3	362 > 288	35	20
Methiocarb	11.4	226 > 169	25	10	Flufenacet	13.6	364 > 194	5	11
Ametryn	10.9	228 > 186	25	20	Tetrachlorvinphos	13.4	365 > 127	32	16
Tebuthiuron	6.4	229 > 172	5	15	Anilofos	14.8	368 > 199	30	15
Flonicamid	3.8	230 > 203	35	15	Methoxyfenozide	13.0	369 > 149	15	15
Diuron	9.6	233 > 72	25	18	Quizalofop-ethyl	16.4	373 > 299	30	18
Oxamyl	2.6	237 > 90	15	10	Mefenpyr-diethyl	15.5	373 > 160	40	32
Carbetamide	6.7	237 > 192	5	10	Oxaziclomefone	17.1	376 > 190	27	15
Ethopabate	6.3	238 > 206	25	10	Carbosulfan	20.9	381 > 118	40	22
Pirimicarb	8.8	239 > 182	25	15	Benthiavalicarb-brisopropyl	11.3	382 > 180	30	39
Oxydemeton-methyl	2.2	247 > 169	26	14	Furathiocarb	17.0	383 > 195	20	15
Forchlorfenuron	9.1	248 > 129	25	15	Fluazafop-P-butyl	17.3	384 > 282	38	22
Linuron	11.7	249 > 182	20	16	Pyraclostrobin	15.2	388 > 194	25	12
Clothianidin	4.4	250 > 169	25	10	Dimethomorph	10.6-10.9	388 > 301	30	20
Thiacloprid	6.4	253 > 126	35	20	Chlomefenozide	13.3	395 > 175	16	20
Ferimzone	9.9-10.1	255 > 132	37	20	Azoxystrobin	12.2	404 > 372	15	16
Imidacloprid	4.7	256 > 209	25	12	Diclosulam	5.9	406 > 161	46	30
Oxacarboxin	6.4	268 > 175	26	16	Benfuracarb	17.0	411 > 195	5	23
Daimuron	12.4	269 > 151	20	10	Cyflufenamid	16.0	413 > 295	27	15
Alachlor	13.5	270 > 238	20	11	Fenpyroximate	18.3	422 > 138	20	30
Nitenpyram	2.5	271 > 126	20	30	Cloransulam-methyl	5.7	430 > 398	36	15
Dimethenamid	11.9	276 > 244	17	14	Benzofenap	15.9	431 > 105	46	28
Metalaxyl	9.4	280 > 192	10	20	Pyrazolate	15.6	439 > 91	34	42
Chloroxuron	11.8	291 > 72	25	20	Propaquizafop	16.6	444 > 100	25	20
Thiamethoxam	3.6	292 > 211	25	10	Cyflumetofen	17.4	465 > 173	10	25
Naproanilide	13.9	292 > 171	36	15	Chlorantraniliprole	10.7	484 > 286	40	30
Simeconazole	11.8	294 > 135	23	27	Flufenoxuron	17.5	489 > 158	30	20
Imazalil	13.0	297 > 159	25	20	Butafenacil	13.9	492 > 331	25	25
Phenmedipham	11.4	301 > 136	45	20	Pyridalyl	21.6	492 > 183	30	16
Fenoxycarb	13.4	302 > 88	10	20	Indoxacarb	15.9	528 > 218	30	25
Flutriafol	9.0	302 > 70	25	16					
Clofentezine	15.5	303 > 138	20	15	EPU	5.2	165 > 77	30	25
Cumyruron	12.1	303 > 185	46	15	TPP	14.9	327 > 215	58	24
Fenamidone	12.2	312 > 92	5	25					
Imazaquin	2.1	312 > 267	40	20					
Flubendazole	8.6	314 > 282	42	22					
Azinphos-methyl	11.7	318 > 125	10	20					

Table 1 (Continued)

Compound	RT (min) <sup>a)</sup>	MRM transition ( <i>m/z</i> )	CV (V) <sup>b)</sup>	CE (eV) <sup>c)</sup>
<Negative mode>				
Dinotefuran	1.9	201 > 61	20	15
Mecoprop	4.4	213 > 141	16	18
Flonicamid	3.8	228 > 81	10	10
2,4-DP	4.5	233 > 161	28	14
Fludioxonil	11.8	247 > 126	42	35
Bromoxynil	3.8	276 > 79	48	30
Boscalid	12.4	341 > 112	30	20
Oryzalin	13.2	345 > 281	50	20
Penthiopyrad	14.4	358 > 149	30	25
Acifluorfen	7.2	360 > 316	14	10
Fomesafen	7.9	437 > 195	59	30
Hexaflumuron	15.4	459 > 175	5	30
Chlorantraniliprole	10.7	482 > 204	20	10
Flufenoxuron	17.5	487 > 156	32	16
Lufenuron	16.8	509 > 326	27	22
Chlorfluazuron	18.1	538 > 355	10	25
Flubendiamide	14.1	681 > 254	28	30

a) Retention time using 10 mM ammonium acetate as the mobile phase additives

b) Cone voltage

c) Collision energy

## II 材料と方法

### 1. 試料

バナナ、レタス及びだいこんは、県内の小売店で販売されているものを使用した。なお、あらかじめこれらの農産物には対象農薬が検出されないことを確認した。

### 2. 試薬及び標準品

分析対象農薬として、混合標準液及び標準品は関東化学製、富士フィルム和光純薬製、Dr.Ehrenstorfer 製及び Sigma-Aldrich 製の残留農薬試験用または同等品を用いた。標準品は、アセトンで溶解し、250 µg/mL の標準原液とし、4°C で保管した。これら標準原液と混合標準液とを混合し、窒素気流下で溶媒濃縮によって 2 µg/mL の農薬混合標準原液を調製した。さらにこの原液をアセトニトリル溶液で希釈して、測定に用いた 0.01 µg/mL の農薬混合標準溶液を調製した（一部農薬については、0.02-0.06 µg/mL）。なお、内部標準物質はトリフェニルリン酸 (TPP) 及び 1-エチル-3-フェニル尿素 (EPU) を用い、それぞれ 0.05 µg/mL 及び 0.1 µg/mL になるよう農薬混合標準溶液を調製した。

アセトニトリル（抽出用）及びアセトンは、富士フィルム和光純薬製の残留農薬試験用を使用した。ギ酸、

25%アンモニア水及び酢酸アンモニウムは、富士フィルム和光純薬製を使用した。アセトニトリル (LC-MS/MS 分析用) は関東化学製の LC/MS 用を用いた。精製水には、Merck Millipore 製 Milli-Q システムを用いた。

農産物からの抽出には Agilent 製 QuEChERS EN15662 抽出キットを、精製には Merck 製 Supel QuE PSA/C18 精製キットを用いた。

### 3. 装置及び測定条件

フードプロセッサーは Panasonic 製 MK-K81、ホモジナイザーは IKA 製 ULTRA-TURRAX T25 digital を使用した。また、振とう機は TAITEC 製 SR-2DS、遠心分離機はエッペンドルフ・ハイマック・テクノロジーズ製 CF6RN 及び CT15RE を用いた。pH メーターは METTLER TOLEDO 製 Seven2Go を使用した。LC-MS/MS は Waters 製 Acquity H Class (LC) 及び Xevo TQ-XS (MS/MS) を用いた。

LC 分析カラムには、Imtakt 製 Cadenza CD-C18 (3.0 mm i.d. × 100 mm, 3 µm) を使用した。移動相には、A 液として中性の 10 mM 酢酸アンモニウム水溶液 (pH 6.7)、弱酸性の 0.01% ギ酸水溶液 (pH 3.2) 又は弱アルカリ性の 0.04 mM アンモニア水 (pH 9.0) の 3 種類のいずれかとし、B 液にはアセトニトリルを使用した。グラジエント条件は、B 液 ; 15%(0 min)→95%(20 min)→95%(25 min) とした。流速は 0.5 mL/min とし、カラム温度は 40°C とした。また、注入量は試験溶液 2 µL に精製水 8 µL を加えた計 10 µL とした。

MS/MS のイオン化法は、ESI(+) (ポジティブモード) 及び ESI(-) (ネガティブモード) で行い、キャピラリー電圧は 0.5 kV とした。乾燥ガスは 400°C で 800 L/hour とした。なお、MRM 条件は Table 1 に示した。試料測定は、各条件においてすべて連続 5 回実施した。

### 4. 試験溶液の調製

均一化した試料 10 g (バナナには試料中の水分量が 10 mL になるように水を 2 mL 添加) に、アセトニトリル 15 mL を加えて、1 分間ホモジナイズした後、抽出試薬を加えた。振とう機を用いて 5 分間振とう後、遠心分離 (3000 rpm, 5 min) し、上澄液を試料抽出液とした。

試料抽出液 1 mL を精製キットを用いて精製した。すなわち、精製試薬と混合して振とうした後、遠心分離 (12000 rpm, 5 min) し、上澄液をブランク試験液とした。マトリックス標準溶液は、このブランク試験液 0.15 mL を窒素気流下で乾固させた後、0.01 µg/mL の農薬混合標準溶液 0.15 mL で溶解させた溶液とした。

Table 2 Peak area ratio and matrix effect factor in 3 different aqueous mobile phases

Compound	Peak area ratio <sup>a)</sup>		Matrix effect factor <sup>b)</sup>									Notes <sup>c)</sup>
			AcONH <sub>4</sub>			HCOOH			NH <sub>4</sub> OH			
	HCOOH	NH <sub>4</sub> OH	A	B	C	A	B	C	A	B	C	
<Positive mode>												
Methamidophos	1.28	0.59	0.83	1.03	1.05	0.92	0.88	0.97	0.92	1.35	0.94	0.05 $\mu$ g/mL
Methomyl	0.82	1.25	1.30	1.39	1.50	0.93	1.01	1.12	0.99	1.08	1.31	
Acephate	1.32	0.74	1.26	1.31	1.45	0.99	0.98	0.98	1.48	<i>1.77</i>	<i>1.70</i>	0.06 $\mu$ g/mL
Carbendazim	2.73	1.92	1.25	1.23	1.34	1.10	1.11	1.17	1.00	1.14	1.24	
Pyrimethanil	17.47	6.06	1.10	1.13	1.28	1.10	1.17	<i>1.52</i>	0.92	1.07	1.17	0.02 $\mu$ g/mL
Dinotefuran	0.64	1.15	1.17	1.36	1.50	0.95	1.00	0.95	0.89	1.12	1.14	
Fenobucarb	5.39	0.66	1.26	1.10	<i>1.72</i>	1.21	1.34	1.45	1.01	1.05	0.94	0.02 $\mu$ g/mL
Propachlor	6.33	1.91	1.04	1.14	1.23	1.28	1.41	1.49	1.01	1.21	1.04	0.02 $\mu$ g/mL
Aldicarb	17.60	0.84	1.07	1.19	1.24	1.05	1.11	1.14	0.82	1.02	1.01	
Omethoate	0.97	1.05	1.20	1.27	1.23	0.93	1.06	1.06	1.00	1.23	1.29	0.02 $\mu$ g/mL
Monolinuron	27.01	2.39	1.45	1.33	<i>1.79</i>	1.29	1.42	<i>1.59</i>	1.02	1.11	1.09	
Pymetrozine	1.31	1.00	1.04	1.21	1.25	1.18	<i>1.54</i>	1.48	0.98	1.10	1.17	
Thidiazuron	4.69	0.68	1.46	<i>1.51</i>	<i>1.92</i>	1.15	1.21	1.32	1.03	1.25	1.41	
Methabenzthiazuron	2.83	1.08	1.05	1.10	1.23	1.15	1.25	1.28	0.95	1.04	1.23	
Chloridazon	0.99	0.94	1.17	1.28	1.40	1.35	1.13	1.17	0.97	1.17	1.24	
Carbofuran	1.16	0.63	1.13	1.26	1.35	1.13	1.17	1.23	0.98	1.10	1.41	0.02 $\mu$ g/mL
Acetamiprid	0.90	0.76	1.13	1.27	1.47	1.18	1.23	1.22	0.97	1.13	1.16	0.05 $\mu$ g/mL
Aldicarb sulfone	0.35	0.83	1.21	1.32	<i>1.53</i>	0.92	0.88	0.83	1.02	1.07	1.23	
Mepanipyrim	3.58	1.44	1.19	1.21	1.28	1.08	1.19	1.27	0.99	1.01	1.10	
Bendiocarb	1.48	0.52	1.15	1.18	1.31	1.16	1.29	1.28	0.96	1.04	1.22	0.02 $\mu$ g/mL
Cyprodinil	5.00	2.24	1.05	1.12	1.19	1.11	1.28	1.31	0.99	1.04	1.14	
Methiocarb	2.36	0.36	1.09	1.25	1.12	1.27	1.41	<i>1.52</i>	0.97	1.03	0.97	
Ametryn	3.88	1.88	1.14	1.18	1.28	1.11	1.18	1.38	1.01	1.08	1.20	0.02 $\mu$ g/mL
Tebuthiuron	2.63	1.39	1.08	1.10	1.19	1.14	1.21	1.26	1.01	1.18	1.26	0.02 $\mu$ g/mL
Flonicamid	98.13	0.67	-	-	-	1.26	1.26	1.40	-	-	-	
Diuron	4.46	1.25	1.12	1.32	1.49	1.31	1.42	1.47	0.99	1.05	1.04	
Oxamyl	0.39	1.28	1.31	1.42	<i>1.74</i>	0.88	0.72	0.76	0.95	1.00	1.17	
Carbetamide	0.80	0.65	1.26	1.34	1.38	1.13	1.25	1.23	0.96	1.19	1.28	
Ethopabate	0.91	0.84	1.11	1.39	1.31	1.14	1.27	1.24	0.94	1.18	1.09	
Pirimicarb	<0.1	2.30	1.08	1.12	1.25	-	-	-	0.99	1.10	1.23	0.02 $\mu$ g/mL
Oxydemeton-methyl	0.81	1.10	1.09	1.12	1.18	1.00	1.05	<i>1.57</i>	1.04	1.18	1.31	
Forchlorfenuron	2.82	1.19	1.09	1.31	1.40	1.01	1.20	1.27	0.91	1.11	1.23	
Linuron	42.46	0.97	-	-	-	1.27	1.35	1.47	-	-	-	
Clothianidin	1.62	1.07	1.27	<i>1.54</i>	0.84	1.10	1.12	1.17	0.95	1.19	0.86	
Thiacloprid	0.82	0.63	1.19	1.35	1.48	1.15	1.21	1.22	1.00	1.12	1.21	0.02 $\mu$ g/mL
Ferimzone	1.45	0.83	1.11	1.19	1.41	1.08	1.18	1.22	0.98	1.07	1.20	
Imidacloprid	1.52	1.02	1.15	1.33	<i>1.52</i>	1.09	1.11	1.21	0.95	1.16	1.16	
Oxycarboxin	0.60	0.48	1.17	1.30	1.43	1.09	1.09	1.20	0.93	1.22	1.14	
Daimuron	1.42	0.62	1.15	1.24	1.29	1.12	1.25	1.27	1.06	1.07	1.10	
Alachlor	1.48	0.44	1.11	1.29	1.36	1.09	1.24	1.24	1.04	0.99	1.09	
Nitenpyram	1.25	1.10	1.24	1.20	1.46	1.20	1.25	1.34	1.06	1.11	1.15	
Dimethenamid	2.29	1.09	1.20	1.22	1.33	1.20	1.26	1.33	1.07	1.08	1.09	0.02 $\mu$ g/mL
Metalaxyl	0.74	0.69	1.11	1.19	1.32	1.15	1.19	1.25	0.95	1.02	1.19	
Chloroxuron	1.77	0.64	1.09	1.18	1.30	1.14	1.22	1.24	1.00	1.12	1.11	
Thiamethoxam	0.52	0.86	1.14	<i>1.70</i>	<i>1.55</i>	1.04	1.27	1.16	0.93	1.27	1.17	
Naproanilide	8.91	0.49	1.21	1.49	<i>1.51</i>	1.22	1.33	1.46	1.27	0.94	1.06	
Simeconazole	3.12	0.87	1.02	1.26	1.36	1.12	1.19	1.27	1.05	1.18	1.20	
Imazalil	<0.1	0.47	1.09	1.14	1.24	-	-	-	0.82	0.88	0.76	0.02 $\mu$ g/mL
Phenmedipham	0.52	0.50	1.14	1.22	<i>1.71</i>	0.85	0.83	0.82	0.97	1.16	1.22	
Fenoxycarb	8.21	0.33	1.16	1.27	1.15	1.18	1.24	1.40	0.94	1.01	1.14	
Flutriafol	3.47	1.02	1.20	1.34	<i>1.55</i>	1.10	1.23	1.28	0.86	1.04	1.24	
Clofentezine	16.92	0.36	-	-	-	1.09	1.32	1.39	-	-	-	
Cumyruron	1.83	0.71	1.17	1.25	1.37	1.16	1.31	1.31	0.95	1.09	1.12	
Fenamidone	2.73	0.73	1.09	1.19	1.34	1.09	1.20	1.21	1.10	1.14	1.13	0.02 $\mu$ g/mL
Imazaquin	<0.1	<0.1	1.06	1.22	1.28	-	-	-	-	-	-	
Flubendazole	6.83	0.80	0.93	0.85	1.03	1.18	1.29	1.34	1.09	<i>1.83</i>	<i>2.62</i>	
Azinphos Methyl	2.04	0.55	-	-	-	1.08	1.38	1.41	0.88	0.96	1.02	0.02 $\mu$ g/mL

Table 2 (Continued)

Compound	Peak area ratio <sup>a)</sup>		Matrix effect factor <sup>b)</sup>									Notes <sup>c)</sup>
	HCOOH	NH <sub>4</sub> OH	AcONH <sub>4</sub>			HCOOH			NH <sub>4</sub> OH			
			A	B	C	A	B	C	A	B	C	
Triticonazole	3.21	0.63	1.22	1.41	1.83	1.15	1.23	1.37	1.06	1.32	1.25	0.02 μg/mL
Pyrifthalid	1.43	0.55	1.12	1.22	1.35	1.08	1.17	1.20	1.04	1.08	1.05	
Iprovalicarb	0.91	0.45	1.13	1.21	1.29	1.13	1.21	1.26	1.04	1.17	1.24	
Clomeprop	21.77	0.19	-	-	-	1.11	1.37	1.41	-	-	-	
Flutolanil	1.82	0.28	1.11	1.27	1.37	1.26	1.31	1.42	1.11	0.97	1.19	
Cyazofamid	10.54	0.66	1.21	1.34	1.34	1.14	1.39	1.39	1.11	0.84	1.19	
Azamethiphos	0.56	0.51	1.20	1.26	1.46	0.98	1.06	1.03	0.94	1.05	1.14	0.02 μg/mL
Flumetsulam	<0.1	<0.1	1.07	1.19	1.35	-	-	-	-	-	-	
Pencycuron	1.51	0.48	1.17	1.38	1.44	1.06	1.18	1.12	0.91	1.00	1.10	
Epoxiconazole	3.93	0.64	1.26	1.35	1.60	1.11	1.19	1.21	1.16	1.23	1.26	0.02 μg/mL
Fluridon	2.51	0.93	1.07	1.16	1.30	1.12	1.24	1.33	0.98	1.08	1.08	0.02 μg/mL
Tralkoxidym	<0.1	<0.1	1.14	1.25	1.39	-	-	-	-	-	-	
Carpropamid	20.95	0.55	1.12	1.14	1.40	1.16	1.31	1.36	0.81	0.71	0.93	
Furametpyr	1.00	0.49	1.11	1.21	1.31	1.08	1.25	1.24	0.96	1.09	1.22	
Cloquintocet-mexyl	1.38	0.55	1.07	1.17	1.22	1.12	1.32	1.32	0.92	1.05	1.09	
Clodinafop-propargyl	3.21	0.37	1.06	1.26	1.36	1.14	1.31	1.28	0.98	1.08	1.09	
Fentrazamide	0.36	0.26	1.29	1.50	1.56	0.95	1.10	0.94	0.95	0.93	1.09	
Tebufenozide	0.67	0.47	1.27	1.46	1.50	1.22	1.41	1.36	1.12	1.03	1.21	
Thiodicarb	0.34	0.41	1.14	1.20	1.63	1.05	1.13	1.05	1.04	1.20	1.30	
Clethodim	<0.1	<0.1	0.89	0.81	1.00	-	-	-	-	-	-	
Penthiopyrad	2.07	0.41	1.19	1.29	1.46	1.00	1.20	1.18	1.02	0.96	1.08	
Fenoxaprop-ethyl	1.03	0.28	1.09	1.27	1.37	1.01	1.18	1.10	1.03	0.97	1.10	0.02 μg/mL
Flufenacet	5.22	0.54	1.09	1.19	1.30	1.22	1.37	1.42	1.03	0.96	1.43	0.02 μg/mL
Tetrachlorvinphos	3.27	0.17	1.04	1.03	1.17	1.23	1.37	1.50	0.97	1.28	1.60	0.02 μg/mL
Anilofos	1.13	0.29	1.00	0.93	1.08	0.97	1.14	1.05	0.93	1.29	1.60	0.02 μg/mL
Methoxyfenozide	0.78	0.50	1.20	1.29	1.43	1.09	1.13	1.13	0.98	1.03	1.12	
Quizalofop-ethyl	1.93	0.25	1.12	1.19	1.24	1.00	1.18	1.16	0.79	1.24	1.20	
Mefenpyr-diethyl	0.38	0.21	1.10	1.18	1.25	1.07	1.34	1.18	0.95	0.96	1.11	0.02 μg/mL
Oxaziclofome	0.80	0.31	1.09	1.19	1.31	1.07	1.21	1.21	0.89	0.98	1.09	
Carbosulfan	0.23	<0.1	0.90	0.87	1.04	1.12	1.20	0.54	-	-	-	0.02 μg/mL
Benthiavalicarb-isopropyl	1.17	0.31	1.09	1.07	1.27	1.16	1.22	1.52	0.98	1.15	1.23	
Furathiocarb	0.38	0.16	1.13	1.23	1.38	1.02	1.25	1.14	0.86	0.96	1.10	0.02 μg/mL
Fluazafop-P-butyl	0.83	0.20	1.12	1.17	1.27	1.03	1.16	1.13	0.92	1.09	1.19	
Pyraclostrobin	1.06	0.40	1.09	1.17	1.30	1.00	1.18	1.07	0.90	1.01	1.21	0.02 μg/mL
Dimethomorph	1.36	0.21	0.94	0.84	0.95	1.12	1.20	1.14	1.02	1.76	2.14	0.02 μg/mL
Chromafenozide	0.63	0.35	1.15	1.24	1.28	1.07	1.16	1.10	1.05	1.07	1.27	
Azoxystrobin	0.89	0.25	0.97	0.86	1.03	1.10	1.16	1.10	1.17	1.79	2.06	0.02 μg/mL
Diclosulam	<0.1	<0.1	1.33	1.31	1.76	-	-	-	-	-	-	
Benfuracarb	0.53	0.19	0.98	0.93	1.05	1.03	1.27	0.92	0.88	1.28	1.51	0.02 μg/mL
Cyflufenamid	3.32	0.39	0.96	1.28	1.39	1.08	1.28	1.23	0.79	0.81	0.89	
Fenpyroximate	0.58	0.21	1.46	1.79	2.08	2.09	2.36	2.37	1.41	1.53	1.46	
Cloransulam-methyl	<0.1	<0.1	1.30	1.35	1.59	-	-	-	-	-	-	
Benzofenap	1.05	0.19	1.11	1.22	1.36	1.00	1.26	1.22	0.82	0.94	1.10	
Pyrazolate	0.67	0.25	1.36	1.43	1.43	0.65	1.08	1.11	0.71	0.98	1.02	
Propaquizafop	0.92	0.20	1.23	1.30	1.37	1.04	1.19	1.11	0.92	1.02	1.00	0.02 μg/mL
Cyflumetofen	0.13	<0.1	0.86	0.64	0.84	-	-	-	-	-	-	
Chlorantraniliprole	0.81	0.47	1.14	1.39	1.40	1.04	1.13	1.07	0.91	1.26	1.01	
Flufenoxuron	13.80	<0.1	-	-	-	1.05	1.28	1.39	-	-	-	
Butafenacil	0.20	<0.1	0.81	0.63	0.76	0.98	1.07	0.74	1.20	2.32	3.54	
Pyridalyl	0.27	<0.1	0.97	0.75	0.76	-	-	-	-	-	-	
Indoxacarb	1.21	<0.1	1.10	1.20	1.23	1.08	1.24	1.13	-	-	-	
EPU/IS	2.03	1.03	2.01	2.20	2.28	2.04	2.24	2.37	1.53	1.88	1.98	0.1 μg/mL
TPP/IS	1.11	0.20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05 μg/mL

Table 2 (Continued)

Compound	Peak area ratio <sup>a)</sup>		Matrix effect factor <sup>b)</sup>									Notes <sup>c)</sup>
			AcONH <sub>4</sub>			HCOOH			NH <sub>4</sub> OH			
	HCOOH	NH <sub>4</sub> OH	A	B	C	A	B	C	A	B	C	
<Negative mode>												
Dinotefuran	0.60	0.90	1.09	1.04	1.33	1.65	1.47	1.47	1.10	1.26	1.30	
Mecoprop	<0.1	<0.1	1.07	1.09	1.10	-	-	-	-	-	-	
Flonicamid	0.42	0.48	1.06	1.06	0.99	1.46	1.35	1.52	1.10	1.26	1.25	
2,4-DP	<0.1	<0.1	1.12	1.12	1.64	-	-	-	-	-	-	
Fludioxonil	0.82	0.74	1.00	0.96	0.89	1.15	1.27	1.25	0.98	1.09	1.12	
Bromoxynil	<0.1	<0.1	1.02	1.02	0.91	-	-	-	-	-	-	
Boscalid	0.25	0.17	0.98	0.98	0.94	1.21	1.30	1.26	1.06	1.34	1.12	0.02 μg/mL
Oryzalin	0.56	0.34	0.95	0.89	0.89	1.29	1.44	1.44	0.97	1.11	1.14	0.02 μg/mL
Penthiopyrad	<0.1	<0.1	1.01	1.00	0.96	1.09	1.13	1.21	0.96	0.91	0.87	
Acifluorfen	<0.1	<0.1	1.21	1.29	1.28	-	-	-	-	-	-	
Fomesafen	<0.1	<0.1	1.07	1.15	1.02	-	-	-	-	-	-	
Hexaflumuron	0.30	0.18	0.95	0.98	0.95	1.17	1.50	1.38	1.02	1.00	0.96	
Chlorantraniliprole	0.55	0.62	0.96	1.00	0.89	1.32	1.58	1.67	1.04	1.12	1.02	
Flufenoxuron	0.20	<0.1	0.79	0.74	0.66	1.20	1.69	1.53	-	-	-	
Lufenuron	0.26	<0.1	0.81	0.79	0.71	1.24	1.46	1.36	0.98	1.09	1.14	
Chlorfluazuron	0.15	<0.1	0.71	0.63	0.60	1.54	1.44	1.38	-	-	-	
Flubendiamide	<0.1	<0.1	0.77	0.59	0.61	1.32	1.54	1.48	0.84	1.48	1.48	

a) Mean peak area ratio of solvent standard to neutral condition ( $n=5$ )

b) Mean peak area ratio of matrix-matched standard to solvent standard in each mobile phase ( $n=5$ ). A: banana, B: lettuce, C: radish

c) Concentration of mix standard solution. Blank space means 0.01 μg/mL

## 5. 水系移動相の液性によるピーク強度への影響

3種類の水系移動相で測定した際の各成分のピーク面積を調査した。試料は溶媒で調製した農薬混合標準溶液を用いて、それぞれのピーク面積は連続5回分析した平均値により比較した。なお、MRM条件の設定において、中性移動相での各成分の保持時間を基準に概ね前後1分のデータを取得した。

## 6. 水系移動相の液性によるマトリックスの影響

3種類の農産物をそれぞれII-4項に従い抽出及び精製したブランク試験液を用いたマトリックス標準溶液と、マトリックスを含まない同濃度の農薬混合標準溶液（溶媒標準液）を3種類の水系移動相でそれぞれ測定した。ピーク面積が1000未満の成分、弱酸性及び弱アルカリ性移動相で測定保持時間の範囲外となった成分は対象外とした。なお、それぞれのピーク面積は連続5回分析した平均値を用いた。

## III 結果及び考察

### 1. 水系移動相の強度等への影響

農薬分析をはじめとしたHPLC分析において、最も広

く使用される分析カラムはC18カラムであり、シリカゲル担体にオクタデシルシリル基（C18基）を化学結合した充填剤が詰められたものである。C18カラムは国内外のメーカーから数多く販売されており、C18の結合方法や結合量の違い、表面処理の有無等により使用可能なpH適用範囲はカラムごとに異なる。近年、耐アルカリ性を向上させた特殊なカラムも存在するが、いずれの製品においても強アルカリ条件ではシリカゲルの溶解のリスクが高まる。今回は、pH適用範囲が一般的なpH1.5-9.0のカラムを用いて、水系移動相を弱酸性、中性及び弱アルカリ性の3種類設定し、II-5に従い測定した。中性移動相には通知試験法で採用されている酢酸アンモニウムを用いた10mM溶液を使用した（pH6.7）。

Table 2に通知試験法と類似条件である中性移動相での各成分のピーク面積を比較対象とし、弱酸性及び弱アルカリ性移動相におけるピーク面積を、それぞれ比率（面積比）で示した。ポジティブモード及びネガティブモードの両方で測定できる成分については、それぞれの数値を示した。

3種の水系移動相の違いに関わらず、同程度の面積を示した成分もあったが、移動相によって顕著な面積差を示したものも見られた。対中性移動相比で、いずれも0.5-2.0の範囲内に入っていたものは、125成分中30成分で

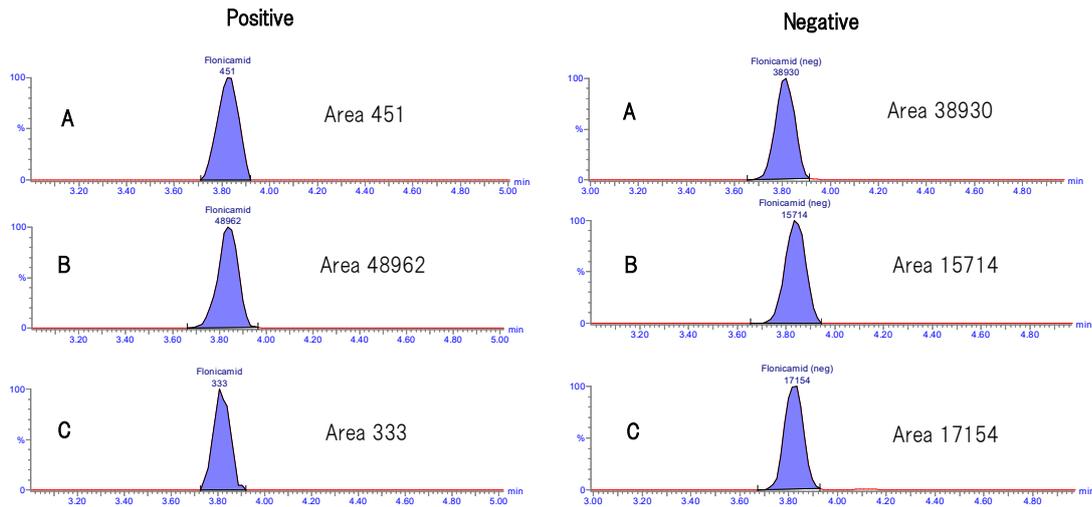


Fig.1 Typical MRM chromatograms of flonicamid in positive ion mode and negative ion mode  
A: 10 mM AcONH<sub>4</sub> (neutral), B: 0.01% HCOOH (acidic), C: 0.04 mM NH<sub>4</sub>OH (basic)

あり、その他の成分では少なくとも弱酸性又は弱アルカリ性のいずれかの移動相で強度が中性移動相の2倍以上増減していることがわかった。なお、今回の調査結果からは中性移動相での保持時間から大きく変動する成分は検出することが不可能なため、イオン化時の有機溶媒比率はほぼ一定で、有機溶媒比率の上昇による検出成分のイオン化効率及び検出強度の向上は無視できるものとした。そのため、MS/MS導入部であるエレクトロスプレー時のpH、導電性及び粘度等が主な影響を与える要因と考えられた。フロニカミドは、ポジティブモード及びネガティブモードの両方で測定できるが、ポジティブモードで測定した際には、中性移動相と比べて弱酸性で約100倍の面積を示し、今回の調査では対中性移動相比が最大となった。これは弱酸性移動相により生成した[M+H]<sup>+</sup>イオンが安定化したことによるものと考えられた。一方、ネガティブモードでは中性が最も強く、弱酸性及び弱アルカリ性の約2倍の面積を示した (Fig.1)。ピリメタニルは中性条件の通知試験法の適用成分であるが、弱酸性で中性の17倍、弱アルカリ性で中性の6倍の面積を示し、これらの条件の方がピークの確認が容易であると思われた。また、シフルメトフェン及びペンチオピラド (ネガティブモード) 等のように中性以外の移動相では強度が著しく低下するものもあった。イマザキン、フルメツラム及びアシフルオフエン等のように中性以外の移動相ではカラム内での分子の解離状態が変化し、保持時間が大きく変化したためピークが検出されなかった成分もあった。また、特筆すべき点として、ネガティブモードで測定した全17成分は、今回の測定保持時間

の範囲内において中性移動相が最も強度が大きいことが明らかになった。

これらの結果から、対象成分によっては通知試験法とは異なるpHをもつ水系移動相を選択することで、強度の向上及び高感度検出が可能であることが示唆された。また、通常我々が残留農薬試験の際に、内部標準物質に指定しているTPP及びEPUについて、弱アルカリ性でのTPPがその他の移動相の約1/5、EPUも弱酸性でその他の移動相の約2倍の面積を示した。内部標準法による定量試験時には、対象農薬成分だけでなく、これらの内部標準物質の強度にも注意が必要であることが明らかになった。

## 2. マトリックスの影響

LC-MS/MSを用いた食品分析において、食品中に含まれる夾雑成分 (マトリックス) の影響により目的成分のイオン化効率に変化し、検出感度が低下したり、上昇することがある。本研究では、このマトリックスの影響をII-6に従い評価した。水系移動相ごとに得られたピーク面積においてマトリックス標準溶液 (α) の溶媒標準溶液 (β) に対する比率 (面積比, α/β) を求め、前述のピーク面積比と同様にTable 2に示した。

3種類の農産物すべてにおいて、面積比が0.50以上1.50以下の範囲内に含まれる成分数は、中性移動相で延べ119成分中101成分 (84.9%)、弱酸性で延べ110成分中97成分 (88.2%) 及び弱アルカリ性で延べ103成分中94成分 (91.3%) だった。移動相による差異は若干見られたが、対象成分のうち8割を超える成分において

顕著なマトリックス効果は認められなかった。範囲外の成分はすべて 1.50 を超えるものであり、感度が上昇している正のマトリックス効果がみられた。これらの成分においては、試験液の希釈等によりマトリックスの影響を低減する必要があると考えられた。また、農産物別では、すべての移動相において上記範囲内に含まれる成分数はバナナが最も多く、レタス、だいこんの順に少なくなっていることから、3 種類の中で特にだいこんでマトリックスの影響が大きいことが明らかになった。

EPU は、面積比が最低でも 1.53 であり、マトリックスによりイオン化が促進されることがわかった。TPP は、ピークの積分において、ブランク試料から妨害ピークが検出されたため、評価の対象外とした。

今回の結果から、いずれの移動相においても農産物の違いにより様々なマトリックス効果が認められた。日常分析で多種類の農産物の残留農薬を測定するにあたり、共通したマトリックスの選定は困難であり、可能な限り農産物ごとのマトリックス標準溶液を用いることの重要性が確認された。

#### IV 結 論

汎用 C18 カラムを用いた LC-MS/MS による残留農薬一斉分析法において、水系移動相に異なる pH をもつ 3 種類の移動相でそれぞれ分析し、125 種の対象成分の検出強度について考察した。日常分析において検出強度の大小は、主に低濃度における定量だけでなく、成分の定性精度にも影響する。一般的に高感度分析を検討する際には、試料の前処理方法等の抜本的な変更が必要とされるが、本研究結果から移動相の違いにより強度が大きく異なる成分も見られることから、通知試験法の対象成分においても単に水系移動相を変更するだけで、さらなる高感度化が可能なものが存在することが明らかになった。また、バナナ、レタス及びだいこんの 3 種類の農産物を用いて移動相の違いによるマトリックスの影響を調査した。8 割を超える成分において面積比が 0.50 以上 1.50 以下の範囲内となっており、顕著なマトリックス効果は認められなかったが、農産物の種類による差が見られた。

#### 文 献

- 1) M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Štajnbaher, F. J. Schenck : Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning

and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *J. AOAC Int.*, **86**, 412-431 (2003)

- 2) 岩越景子, 田村康宏, 大塚健治, 富澤早苗, 八巻ゆみこ, 増渕珠子, 中川由紀子, 増田諒子, 佐藤千鶴子, 笹本剛生, 高野伊知郎 : LC-MS/MS を用いた農産物中残留農薬の迅速試験法に関する検討. *食衛誌*, **55**, 254-260 (2014)
- 3) 高取聡, 山本遥菜, 福井直樹, 山口聡子, 北川陽子, 柿本葉, 小阪田正和, 起橋雅浩, 梶村計志, 尾花裕孝 : LC-MS/MS を用いた迅速な野菜類および果実類中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価. *食衛誌*, **54**, 237-249 (2013)
- 4) 上野英二, 渡邊美奈恵, 梅村優子, 井上知美, 猪飼誉友 : LC-MS/MS による農産物中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価. *食衛誌*, **55**, 290-296 (2014)
- 5) 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. 平成 17 年 1 月 24 日, 食安発第 0124001 号 (2005)
- 6) 中野裕太, 長澤英子, 内田文晴, 坂牧寛 : アンモニア溶液を溶離液とする LC-MS/MS による残留農薬の高感度検出. *分析化学*, **69**, 141-150 (2020)
- 7) 橋本諭, 上野健一, 西村一彦, 平間祐志 : ホタテガイ中の脂溶性海洋生物毒, 遊離多価不飽和脂肪酸及び遊離オクタデセン酸の LC/MS 法による一斉分析法の開発. *道衛研所報*, **63**, 21-28 (2013)

(令和 6 年 3 月 19 日受理)