ガスクロマトグラフ質量分析—選択的イオンモニター法 による農薬のスクリーニング

(平成6年4月11日受理)

川崎 勝* 福原克治* 内山貞夫*

Gas Chromatographic-Mass Spectrometric (GC/MS) Screening of Pesticides

Masaru KAWASAKI, Katsuharu FUKUHARA and Sadao UCHIYAMA

(Hatano Research Institute Food and Drug Safety Center:
729-5, Ochiai, Hadano, Kanagawa 257, Japan)

Gas chromatography-mass spectrometry with selected ion monitoring (GC/MS SIM) was evaluated for 53 pesticides by selecting multiple characteristic target ions for all the pesticides. These pesticides could be assayed simultaneously and effectively by GC/MS (SIM). In the final clean up, most of the pesticides were concentrated in the *n*-hexane/acetone (17:3) eluate from a Florisil column. This approach seems effective for simple multi-residue analysis of pesticides in foods.

(Received April 11, 1994)

Key words: ガスクロマトグラフ質量分析法 gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS); 農薬 pesticides; 固相抽出法 Solid-phase extraction (SPE); 選択的イオンモニター法 selected ion monitoring (SIM)

緒 言

厚生省は平成4年10月27日に34農薬について残留基準を告示し¹⁾、平成5年9月14日に19農薬についても残留基準を告示した²⁾。これらの告示にある残留基準値の定められた農薬の分析法は、個別分析法が主体となっており、個別分析を行う以前の効率的な残留農薬の同時スクリーニング法の確立が望まれている。そこでガスクロマトグラフ質量分析法 (GC/MS) による同時スクリーニングで、選択的イオンモニター (Selected Ion Monitor: SIM) 法におけるターゲットイオン選択とクリーンアップ時におけるカートリッジカラムによる固相抽出法の2点について検討することとした。GC/MSの同時スクリーニングについては、Liao³⁾らにより既にスキャン法で測定する方法が報告されている。スキャン法に比べて高感度かつ夾雑物の影響が少ないSIM法は、質量数の異なるターゲットイオンを数種選択して測定する方法であり、保持時間が重なっても分別測定が可能になるという利点がある。

平成4年及び5年に告示された農薬^{1), 2)}を中心とした53種の農薬についてGC/MS(SIM)のターゲットイオンの選択法に関する基礎的研究を行うことにした。また同時に残留農薬の抽出操作におけるクリーンアップをシリカ及びフロリジルカートリッジカラムによる固相抽出法を検討したので報告する。

実験方法

1. 試薬及び溶媒

n-ヘキサン、アセトン: 和光純薬工業(株)製残留農薬試験用を用いた。

農薬標準品: (株)林純薬の農薬試験用。農薬標準品の名称を以下に示す。

アセフェート、アミトラズ、アルジカルブ、イプロジオン、エスプロカルブ、エチオフェンカルブ、エディフェンホス、エトキシキン、エトプロホス、エトリムホス、オキサミル、キナルホス、キノメチオネート、キャプタン、クロフェンテジン、クロルピリホス、クロルプロファム、シハロトリン、シベルメトリン、ジエトフェンカルブ、ジクロフルアニド、ジコホルル、セトキシジム、ダコニル、テルブホス、トラロメトリン、トリアジメノール、トリクロルホン、トリフルミゾール、パラチオン

* (財)食品薬品安全センター-秦野研究所: 〒257 神奈川県秦野市落合 729-5

メチル, ビテルタノール, ビングロゾリン, ピリフェノックス, ビリミカーブ, フェナリモル, フェニトロチオン, フルシトリネート, フルトラニル, フルバリネート, プレチラクロール, プロシミドン, プロチオホス, プロバジット, プロバモカルブ, ベルメトリン, ペンダイオカルブ, ペンディメタリン, マラチオン, メタミドホス, メチダチオン, メトリブジン, メフェナセット, メプロニルを用いた。

農業標準原液: それぞれの農業標準品 50 mg をアセトンに溶かして 50 ml (1 mg/ml) とし, 冷蔵庫に保管した。

農業標準溶液 GC/MS 用: 農業標準原液を 10 ppm になるように *n*-ヘキサンで希釈した。

混合標準溶液: それぞれの農業標準原液を等量ずつ混合し, 各農薬の濃度が 2 ppm になるように, *n*-ヘキサンで希釈した。検量線用標準溶液は, 希釈濃度が 2.0, 1.0, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05, 0.02, 及び 0.01 ppm になるように, *n*-ヘキサンで適宜希釈した。

固相抽出用カートリッジカラム: バリアン社製ボンドエルートフロリジル PR (500 mg/2.8 ml) 及びボンドエルートシリカゲル (500 mg/2.8 ml) を用いた。

2. 装 置

ガスクロマトグラフ-質量分析計: (株)島津製作所製ガスクロマトグラフ GC-17 A 及び質量分析計 PARVUM QP5000

データー処理装置: (株)サンヨー製 AXAGE Ⅱ 及び (株)島津製作所製ソフトウェア Class 5000

オートインジェクター: (株)島津製作所製 AOC-17

3. GC/MS 測定条件

GC カラム: J & W Scientific 社製キャピラリー DB5-ms (0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚 0.25 µm)

カラム温度: 50° (1.5 min) → 300° (10 min), 10°/min
気化室温度: 250°

キャリアーガス: He (20 ml/min)

注入量: 1 µl (スプリットレス); サンプルング時間: 1.00 min

MS 条件: イオン化法 EI, イオン化電圧 70 eV

スキャンパラメーター: 検出器ゲイン 1.75 kV

溶媒溶出時間: 3.00 min

測定時間: 4.00~35.00 min

走査質量範囲: *m/z* 40.00~400.00

4. 選択的イオンモニター法 (SIM)

SIM のパラメーターは以下の条件である。

検出器ゲイン: 1.75 又は 2.5 kV

最大イオンセット数: 20

溶媒溶出時間: 3.00 min

サンプルングレート: 0.30 sec

マイクロスキャン幅: 0.50

GC/MS の分析操作は (株)島津製作所製ソフトウェア

— class 5000 を用いた。未知濃度の試料の測定はその都度既知濃度を測定して, そのデーターを Class 5000 で計算して得られた検量線から求めた。

GC/MS に関する定量パラメーターは以下の条件で行った。

定量計算法: 絶対検量線法

検量線の種類: 最小二乗法

検量点数: 5

定量ピークの Window (%): 5.00

基準ピークの Window (%): 10.00

成分ごとの情報は以下の条件である。波形処理時間幅, 質量数の本研究で採用したイオンセット, 成分ごとの保持時間, 質量数は Table 1 に示した。

波形処理パラメーター: width 2.00 sec

Slope: 500.00×100/min (又は 2000×100/min)

Drift: 0.0×1000/min

T. DBL: 1000.00 min

5. 固相溶出パターン の検討

ボンドエルートフロリジル PR 及びシリカゲルを 2 ml の *n*-ヘキサンでコンディショニングを行い, 農業標準混液及び試験溶液 2 ml をカラムに負荷した。その後ヘキサン 5 ml (画分 1), ヘキサン-アセトン (17:3) 5 ml (画分 2), ヘキサン-アセトン (1:1) 5 ml (画分 3) で順次溶出し, 各画分を窒素気流中で濃縮し, 有機溶媒を溶出した後, 残留物をヘキサン 2 ml に溶解して, GC/MS 用の試験溶液とした。

結果及び考察

1. GC/MS スキャン法による検討

質量分析計を用いスキャン法による各農薬の保持時間及びマスパターンを調べ, フラグメントイオンの帰属を試みた。この結果, 農薬の化学構造に特異的に応答するターゲットイオンの選択が可能になり, SIM 法による定量法にある程度の定性能を付加することができた。各農薬の保持時間及びフラグメントイオン (ターゲットイオンのみ記した) の帰属は Table 1 に示した。全体的なフラグメンテーションの傾向として分子イオンピーク $[M]^+$, $[M-1]^+$ は, 16 種の農薬に観察されたが, 相対強度は比較的小さかった。農薬の直鎖の部分に関しては, 酸素, 窒素, リン等に隣接する部分から切れる傾向があり, 水素転移による水素の添加及び脱離が観察された。塩素系農薬に関してはハロゲンが脱離する傾向があり, リン系農薬に関しては小林ら^{7), 8)}の報告している開裂パターンと類似のパターンが得られた。スキャンの分析条件では, ジクロフルアニド, エスプロカルブ及びマラチオン (Table 1 中のイオンセット番号 #8 を参照), クロルピリホス及びジエトフェンカルブ (同 #9), プロシミドン, キャプタン, トリアジメノール及びトリフルミゾール (同 #11), ピリフェノックス及びキノメチオネート (同 #12), プレチラクロール及びプロチオホス (同

Table 1. List of the Pesticides of Retention Time, Molecular Weight, Target Ion and Its Proposed Ion Assignments, Determination Limit, Bond Elut Elution Pattern, Measurement Time and Monitoring Ion

Ion-set No.	Pesticides	Retention time (min)	Molecular weight	Target ion (m/z)	Proposed ion assignments	Determination limit ($\mu\text{g/ml}$)	Bond Elut silicagel (mean $\pm$ SD) (% , n=3)			Bond Elut florasil (mean $\pm$ SD) (% , n=3)		
							Fr. 1*1	Fr. 2*2	Fr. 3*3	Fr. 1*1	Fr. 2*2	Fr. 3*3
#1	1a Aldicarb	4.63	190.3	115	$[\text{C}_6\text{H}_{10}\text{SN}-1]^+$	0.02	1.5 $\pm$ 0.9		71.0 $\pm$ 1.9		99.9 $\pm$ 0.2	
	1b			100	$[\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2\text{N}_2-1]^+$	0.02			76.1 $\pm$ 2.1		99.2 $\pm$ 3.0	
	2a Edifenphos	6.10	310.4	120	$[\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2\text{PS}-4\text{H}]^+$	0.01	20.9 $\pm$ 4.1			29.0 $\pm$ 3.7		
	2b			105	$[\text{C}_2\text{H}_5\text{OPS}-3\text{H}]^+$	0.01	18.8 $\pm$ 0.9			24.7 $\pm$ 3.0		
	3a Clofentezine	9.45	303.2	139	$[\text{C}_7\text{H}_4\text{NCl}]^+$	0.02		93.4 $\pm$ 5.9			99.6 $\pm$ 5.0	
	3b			137	$[\text{C}_7\text{H}_4\text{NCl}-2\text{H}]^+$	0.01		94.0 $\pm$ 5.9			100.2 $\pm$ 3.4	
	4a Malathion	9.66	330.4	127	$[\text{CH}_3\text{OPS}_2+1]^+$	0.02		82.0 $\pm$ 7.4	31.6 $\pm$ 1.7		92.7 $\pm$ 11.4	
	4b			99	$[\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2-1]^+$	0.05		95.2 $\pm$ 8.1	117.2 $\pm$ 18.8		164.5 $\pm$ 70.9	
Measurement time (min): 4.00~9.97												
Monitoring ion (m/z): 99, 100, 105, 115, 120, 127, 137, 139												
#2	5a Methamidophos	10.28	141.1	141	$[\text{M}]^+$							21.3 $\pm$ 1.3
	5b			94	$[\text{M}-\text{CH}_3\text{S}]^+$	0.2			23.8 $\pm$ 0.4			20.4 $\pm$ 1.3
	6 Trichlorphon	10.58	257.4	109	$[\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_3\text{P}]^+$	0.05			70.6 $\pm$ 2.4		16.0 $\pm$ 1.7	50.0 $\pm$ 1.5
	7a Bendiocarb	11.00	223.2	166	$[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_4\text{NO}+1]^+$	0.01			89.0 $\pm$ 0.4		103.9 $\pm$ 3.1	
	7b			151	$[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_4\text{NO}-\text{CH}_3+1]^+$	0.01			91.3 $\pm$ 1.8		99.0 $\pm$ 1.9	
	8 Propamocarb	12.84	188.3	58	$[\text{C}_3\text{H}_8\text{N}]^+$	0.01		7.4 $\pm$ 7.3	18.1 $\pm$ 0.4		12.5 $\pm$ 1.1	14.6 $\pm$ 0.6
Measurement time (min): 9.97~13.05												
Monitoring ion (m/z): 58, 94, 109, 141, 151, 166												
#3	9a Ethiofencarb	13.25	225.3	168	$[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_4\text{NO}+1]^+$	0.05			38.3 $\pm$ 1.8		78.5 $\pm$ 4.4	
	9b			107	$[\text{C}_7\text{H}_6\text{O}+1]^+$	0.02		1.6 $\pm$ 0.0	39.9 $\pm$ 1.0		78.9 $\pm$ 4.1	
	10a Acephate	13.38	183.2	136	$[\text{M}-\text{CH}_3\text{O}_2]^+$	0.5		39.7 $\pm$ 6.4				
	10b			94	$[\text{M}-\text{CH}_3\text{O}_2-\text{CHNO}+1]^+$	0.5		33.1 $\pm$ 0.0		35.1 $\pm$ 4.3		
	11a Oxamyl	14.68	219.3	98	$[\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_2\text{O}]^+$	0.2		12.5 $\pm$ 0.5	61.2 $\pm$ 2.3		88.5 $\pm$ 4.6	
	11b			72	$[\text{C}_3\text{H}_6\text{NO}]^+$	0.2	37.1 $\pm$ 1.5	20.5 $\pm$ 2.1	55.1 $\pm$ 4.4		21.2 $\pm$ 1.7	89.2 $\pm$ 2.3
Measurement time (min): 13.05~15.39												
Monitoring ion (m/z): 72, 94, 98, 107, 136, 168												
#4	12a Ethrophosphos	16.09	242.3	139	$[\text{CO}_2\text{PS}_2]^+$	0.01		79.6 $\pm$ 4.6	4.4 $\pm$ 0.4		99.2 $\pm$ 1.7	
	12b			126	$[\text{O}_2\text{PS}_2-1]^+$	0.01		78.3 $\pm$ 3.3	20.3 $\pm$ 0.7		96.9 $\pm$ 1.6	
	13a Chlorpropham	16.35	213.7	213	$[\text{M}]^+$	0.01		81.9 $\pm$ 3.8	1.7 $\pm$ 0.1		103.7 $\pm$ 0.4	
	13b			127	$[\text{C}_6\text{H}_5\text{CIN}+1]^+$	0.01		82.9 $\pm$ 4.1	7.5 $\pm$ 0.1		98.8 $\pm$ 2.0	

Table 1. continued

Ion-set No.	No.	Pesticides	Retention time (min)	Molecular weight	Target ion (m/z)	Proposed ion assignments	Determination limit ($\mu\text{g/ml}$)	Bond Elut silicagel (mean $\pm$ SD) (% $n=3$)			Bond Elut florisil (mean $\pm$ SD) (% $n=3$)		
								Fr. 1*1	Fr. 2*2	Fr. 3*3	Fr. 1*1	Fr. 2*2	Fr. 3*3
#8	26a	Esprocarb	19.80	265.4	91	$[\text{C}_6\text{H}_5 + \text{CH}_2]^+$	0.01		87.2 $\pm$ 1.4			95.7 $\pm$ 2.9	0.4 $\pm$ 0.1
	26b				71	$[\text{C}_6\text{H}_{11}]^+$	0.01		86.7 $\pm$ 1.3			101.8 $\pm$ 5.0	
	27a	Dichlofluand	19.79	333.2	224	$[\text{M} - \text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2\text{NS} - 1]^+$	0.01		76.5 $\pm$ 3.9			96.2 $\pm$ 4.3	
	27b				123	$[\text{C}_6\text{H}_5\text{NS}]^+$	0.01		76.2 $\pm$ 5.5	7.8 $\pm$ 0.6		92.7 $\pm$ 2.1	
	28a	Malathion	19.79	330.4	173	$[\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_4]^+$	0.02		53.2 $\pm$ 4.3	16.9 $\pm$ 1.2		94.1 $\pm$ 5.0	
	28b				127	$[\text{CH}_3\text{POS}_2 + 1]^+$	0.02		55.2 $\pm$ 4.4	19.0 $\pm$ 1.3		102.5 $\pm$ 3.8	
Measurement time (min): 19.71~19.87													
Monitoring ion (m/z): 71, 91, 123, 127, 173, 224													
#9	29a	Chlorpyrifos	19.95	350.6	199	$[\text{C}_5\text{HNOCl}_3 + 1]^+$	0.01		76.8 $\pm$ 4.3			102.1 $\pm$ 2.5	
	29b				97	$[\text{C}_4\text{HNCI} - 1]^+$	0.02		79.1 $\pm$ 4.7			103.2 $\pm$ 2.9	
	30a	Diethofencarb	19.96	267.3	267	$[\text{M}]^+$	0.1	26.3 $\pm$ 2.5		96.8 $\pm$ 6.7		107.2 $\pm$ 4.2	
	30b				151	$[\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_2\text{N}]^+$	0.1	21.0 $\pm$ 4.6		21.0 $\pm$ 2.2		89.3 $\pm$ 3.9	
Measurement time (min): 19.87~20.13													
Monitoring ion (m/z): 97, 151, 199, 267													
#10	31a	Dicofol	20.29	370.5	139	$[\text{C}_7\text{H}_5\text{OCl} - 1]^+$	0.01		83.5 $\pm$ 3.4			100.0 $\pm$ 1.3	
	31b				111	$[\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}]^+$	0.01		87.6 $\pm$ 3.7			97.9 $\pm$ 1.8	
	32a	Pendimethalin	20.65	281.3	281	$[\text{M}]^+$	0.02		70.3 $\pm$ 5.8			91.7 $\pm$ 6.5	
	32b				252	$[\text{M} - \text{C}_2\text{H}_5]^+$	0.01		68.7 $\pm$ 6.1			103.5 $\pm$ 7.8	
	33a	Pyrenox	20.86	295.8	262	$[\text{M} - \text{OCH}_3 - 3\text{H}]^+$	0.05			75.7 $\pm$ 1.3		120.2 $\pm$ 1.9	
	33b				187	$[\text{C}_7\text{H}_5\text{NOCl}_2]^+$	0.1			86.6 $\pm$ 2.0		118.2 $\pm$ 1.9	
	34a	Quinalphos	21.02	298.3	298	$[\text{M}]^+$	0.02		54.6 $\pm$ 33.1			99.4 $\pm$ 5.4	
	34b				146	$[\text{C}_8\text{H}_5\text{N}_2\text{O} + 1]^+$	0.01		1.2 $\pm$ 0.1			98.0 $\pm$ 3.2	
Measurement time (min): 20.13~21.05													
Monitoring ion (m/z): 111, 139, 146, 187, 252, 262, 281, 298													
#11	35	Captan	21.08	300.6	79	$[\text{C}_8\text{H}_6 + 1]^+$	0.05		101.8 $\pm$ 2.3	86.9 $\pm$ 0.6		99.3 $\pm$ 2.3	
	36a	Procymidone	21.06	284.1	283	$[\text{M} - 1]^+$	0.05		98.6 $\pm$ 1.6			80.4 $\pm$ 13.6	
	36b				96	$[\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}]^+$	0.01		98.6 $\pm$ 1.6			82.5 $\pm$ 4.0	
	37a	Triadimenol	21.08	295.8	112	$[\text{C}_8\text{H}_4\text{Cl} + 1]^+$	0.05		7.3 $\pm$ 0.8	78.1 $\pm$ 1.7		91.2 $\pm$ 1.7	
	37b				168	$[\text{C}_8\text{H}_4\text{Cl} + \text{C}_2\text{HO}_2]^+$	0.05			75.4 $\pm$ 2.7		94.2 $\pm$ 2.4	
	38a	Triflurizole	21.08	345.7	278	$[\text{M} - \text{C}_3\text{H}_3\text{N}_2]^+$	0.02			76.5 $\pm$ 2.5		101.2 $\pm$ 10.4	
	38b				73	$[\text{C}_4\text{H}_9\text{O}]^+$	0.02		5.5 $\pm$ 0.2	79.7 $\pm$ 1.8		94.1 $\pm$ 0.7	

Table 1. continued

Ion-set No.	Pesticides	Retention time (min)	Molecular weight	Target ion (m/z)	Proposed ion assignments	Determination limit (μg/ml)	Bond Elut silicagel (mean ±SD) (% , n=3)			Bond Elut florisil (mean ±SD) (% , n=3)		
							Fr. 1*1	Fr. 2*2	Fr. 3*3	Fr. 1*1	Fr. 2*2	Fr. 3*3
63b				163	[C ₇ H ₉ Cl ₂] ⁺	0.1		63.9±2.6			98.3±6.5	
64a	Cypermethrin	27.80	416.3	209	[C ₁₄ H ₁₀ NO+1] ⁺	0.2		179.1±72.8			134.2±43.2	
64b				163	[C ₇ H ₉ Cl ₂] ⁺	0.1		96.3±4.9			126.3±5.9	
65a	Flucythrinate	27.98	451.5	199	[C ₁₁ H ₁₃ OF ₂] ⁺	0.05		11.4±0.5	45.6±1.0		100.7±4.9	
65b				157	[C ₁₁ H ₁₃ OF ₂ -C ₃ H ₇ +1]	0.1		15.4±1.1	49.9±1.0		93.7±4.0	
Measurement time (min): 27.21~28.47												
Monitoring ion (m/z): 157, 163, 199, 209												
#19	Fluvalinate	28.96	502.9	250	[C ₁₁ H ₁₂ NF ₃ Cl] ⁺	0.1		64.8±5.4			102.1±4.0	
66b				209	[C ₁₄ H ₁₀ ON+1] ⁺	0.2		62.5±6.2			121.0±1.1	
67a	Fluvalinate	29.05	502.9	250	[C ₁₁ H ₁₂ NF ₃ Cl] ⁺	0.05		66.7±3.7			107.3±8.1	
67b				209	[C ₁₄ H ₁₀ ON+1] ⁺	0.5		78.2±5.0			101.6±5.3	
Measurement time (min): 28.47~29.55												
Monitoring ion (m/z): 209, 250												
#20	Tralomeethrin	30.05	665.0	253	[M-C ₇ H ₉ Br ₂ +1] ⁺	0.2		92.3±4.5			96.5±1.6	
68b				209	[M-C ₈ H ₉ O ₂ Br ₄ +1] ⁺	0.5		81.3±2.2			77.3±3.3	
Measurement time (min): 29.55~35.00												
Monitoring ion (m/z): 253, 209												

*1 Fr. 1: Eluted with 5 ml of hexane
*2 Fr. 2: Eluted with 5 ml of hexane/acetone (17:3)
*3 Fr. 3: Eluted with 5 ml of hexane/acetone (1:1)

スキャン番号: 2739

ピーク数 : 55 保持時間: 25.617

ベースピーク: 44.10 (46419)

Amitraz

M. W. 293.4

アミトラズ

 $C_{19}H_{23}N_3$

スキャン番号: 2717

ピーク数 : 165 保持時間: 25.633

ベースピーク: 181.15 (650607)

Cyhalothrin

M. W. 449.9

シハロトリン

 $C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$

スキャン番号: 2477

ピーク数 : 161 保持時間: 25.633

ベースピーク: 192.15 (1662610)

Mefenacet

M. W. 298.4

メフェナセツ

 $C_{16}H_{14}N_2O_2S$

Fig. 1. Mass spectrum of amitraz, cyhalothrin and mefenacet

#13), プロバジット及びセトキシジム (同 #14), メフェナセツ, アミトラズ及びシハロトリン (同 #16), フルシトリネート及びシベルメトリン (同 #18) については, 保持時間が重なるかあるいは極めて近かった。

これらについては, 一般的に更に分離の良いクロマトグラフィー条件を検索すべきであるが⁵⁾, SIM 法では農薬の保持時間が重なった場合でも, 高感度で分別定量できる可能性があることから検討することとした。

2. SIM 法による定量

SIM 法は、スキャン法に比べて高感度で、かつ夾雑物の影響が少ないという利点がある⁹⁾。複数の農薬の保持時間が重なった場合、各々の農薬の構造に特有なフラグメントイオンの相対強度が強く、かつその質量数が他方の農薬に観察されない場合にのみ GC/MS 上の分別定量を行うこととした。例えば、イオンセット #16 の、メフェナセット、アミトラズ及びシハロトリンについて考察すると (Fig. 1 参照)、メフェナセットは、 m/z 192 に $[M-C_6H_5-CH_3N]^+$ のフラグメントイオンが、また m/z 106 に $[C_6H_5+CH_3N]^+$ のフラグメントイオンが観察された。 m/z 192 はアミトラズやシハロトリンには観察されなかった。アミトラズは m/z 132 に $[C_9H_{10}N]^+$ 、 m/z 162 に $[M-C_9H_{10}N+1]^+$ のフラグメントイオンが観察され、これらは、他の 2 種の農薬には観察されなかった。シハロトリンは、 m/z 209 $[C_{14}H_{10}NO+1]^+$ 、 m/z 197 $[C_8H_9ClF_3]^+$ のフラグメントイオンが観察され、これらの質量数は他の農薬には観察されなかった。また m/z 77 のベンゼンに基づくと思われるフラグメントイオンピークがすべての農薬に観察された (Fig. 1)。SIM 法では、ターゲットイオンの数 (Class 5000 の場合、最大 32 個) をあまり多く選択すると、感度が低下したので、測定区間をピークの重なり具合やターゲットイオンも考慮して、分割して測定する必要があった (個々の区間をイオンセットと称す)。そこで、メフェナセット、アミトラズ及びシハロトリンについては、ターゲットイオンとして、前述のイオン 6 個と後に出現するフェナリモルの m/z 139 と m/z 330 の 2 個を加えて、25.06 分から 26.21 分の間で測定したところ m/z 77、 m/z 192 を除いて分別定量が可能であった (Fig. 2)。これらの考えに基づき農薬のスキャン法で得られたフラグメントイオンを帰属し、ピークが重なった農薬については、他方にそのフラグメントイオンが無いことを確認してターゲットイオンを 2 個ずつ選択した。更に測定区間をターゲットイオンの数が合計 10 個以内に収まるようにして、20 区間に分割測定することとした。この方法により 53 種の農薬について Fig. 2 に示したとおり分別測定が可能となった。

一般的に電子イオン化 (EI) による MS は、有機化合物の構造解析に利用されているが、様々な要因により、マスパターンの再現性に乏しく定量には向かないといわれている¹⁰⁾。今後、長期間継続して GC/MS を定量的に利用するためには、時々マスパターンをチェックし、ターゲットイオンを選択しなおす必要があると考えられる。

3. 固相抽出による溶出

残留農薬の多成分同時スクリーニングを行う場合、抽出液中の食品由来の夾雑物の除去が重要となるが、Luke ら^{4)~6)}によって主に液-液分配による抽出操作が詳しく検討されている。そこで、抽出物のクリーンアップ

をより効果的に行う目的で、シリカゲル及びフロリジルによる固相抽出を比較検討した。溶出パターンを Table 1 に示した。シリカゲルカラムは、各農薬が画分 2 と画分 3 に分散して溶出する傾向がみられるが、フロリジルカラムは、画分 2 (*n*-ヘキサン-アセトン 17:3) に集中して溶出する傾向がみられ、クリーンアップとして適していた。シリカゲルでは 53 種の農薬のうち異なる質量数のターゲットイオンにより、次のマラチオン、ジエトフェンカルブ、キャプタン、キナルホスの回収率にばらつきがみられ、シリカゲルを使用するときには注意が必要であった。

フロリジルカラムにおいて、マラチオンでは m/z 127 の方が m/z 99 のターゲットイオンよりも良好な回収率を与え、質量数のより大きいターゲットイオンの選択が適していることを示している (Table 1)。この例のようにターゲットイオンを 2 個選択しておけば、片方のイオンに異常値が生じて他方のイオンが正常値として使える利点がある。すなわち相対強度の比較的小さいイオンを選択したときや、EI-MS の要因により質量数に変動を起こしたときに、異常値を生ずることがある。また、マラチオンの (m/z 99) とシベルメトリンの (m/z 209) については変動係数が 43.03 と 32.18 と大きい。また、 m/z 127 (マラチオン) と m/z 163 (シベルメリン) のターゲットイオンを選択すれば、変動係数が 12.26 以下と比較的低くて、この点からもターゲットイオンを 2 個選択する必要があった。これらのことからマラチオンとシベルメリンは、測定値の片方を選択することにより測定が可能となった。しかしエディフェンホス、メタミドホス、アセフェートについては、いずれのカラムにおいても回収率が 39% 以下であり、吸着による減少も考えられるが、詳細な原因は不明である (Table 1)。トリクロロンとオキサミルについては、画分 2 と 3 に分散する傾向がみられたが、Table 1 から良好な回収率を得ることが可能と考えられる。以上、クリーンアップ操作では、フロリジルカートリッジが 53 農薬中 48 農薬について最適な固相抽出法であった。

残留農薬を分析するに当たり、植物に含有する油脂成分が農薬と分離しにくく、ときには、分離を妨げることがしばしば問題となる。そこで、植物油脂を多量に含有するマカデミアナッツを選び、その残留基準が定められている農薬を中心にして本法による添加回収率を測定した。マカデミアナッツにセトキシジム、トリクロロン、ピリミカブ、エチオフェンカルブ、メトリブジン、マラチオン、シハロトリン、ピテルタノール、ベルメリン、フルシトリネート、トラロメトリンを 0.2 ppm 添加し、Luke らの方法^{4)~6)}及び GC/MS (SIM) 法に従って測定したところ、いずれも 85% 以上の良好な回収率が得られた。今後は、様々な食品について、添加回収実験や実態調査などを行う予定である。

イオンセット番号 : #1

イオンセット番号 : #2

イオンセット番号 : #3

Fig. 2. Selected ion monitor (SIM) chromatogram of 53 pesticides mixture

イオンセット番号 : #4

イオンセット番号 : #5

イオンセット番号 : #6

Fig. 2. continued

Fig. 2. continued

イオンセット番号: #10

イオンセット番号: #11

イオンセット番号: #12

Fig. 2. continued

イオン番号 : #13

イオン番号 : #14

イオン番号 : #15

Fig. 2. continued

イオン番号 : #16

イオン番号 : #17

イオン番号 : #18

Fig. 2. continued

Fig. 2. continued

まとめ

1. 残留農薬の分析を正確で効率的に行うための基礎研究として、GC/MS (SIM) 法と固相抽出法によるクリーンアップ法を検討し、より効果的な分別定量法の設定のための知見を得た。

2. GC/MS スキャンにより新基準の 53 種の農薬のマススペクトルを測定後、それぞれのターゲットイオンを選択してその帰属を行った。ターゲットイオンの選択法としては、農薬の構造に特有かつ相対強度が大きいイオンを選択した。

3. 50 種程度の農薬を同時スクリーニングする場合のターゲットイオンには、2 個程度が適当であることが判明した。

4. 固相抽出カートリッジの溶出パターンを調べたところ、フロリジルカートリッジで、ヘキササン-アセトン (17:3) の溶出画分にほとんどの農薬 (53 農薬中 48 農

薬) が溶出した。

5. マカデミアナッツに 11 種の農薬を添加し、Luke ら^{4)~6)} の方法で液-液抽出及び本法を用いることにより、いずれの農薬も 85% 以上の良好な回収率を得た。今後、様々の食品に本法を用いて、その適応性を検討する予定である。

謝 辞

今回の研究を行うに当たり貴重な標品を分与して下さった、国立衛生試験所の斎藤行生博士、佐々木久美子博士に深謝し、貴重な御助言をいただいた根本 了氏に衷心より感謝いたします。

文 献

- 1) 厚生省告示第 239 号 (平成 4 年 10 月 27 日)。
- 2) 厚生省告示第 200 号 (平成 5 年 9 月 14 日)。
- 3) Liao, W. T. J., Gusick, W. C.: J. Assoc. Anal. Chem. **74**, 544~565 (1991)。

- 4) Luke, M. A., Doose, G. M.: Bull. Environm. Contam. Toxicol. **30**, 110~116 (1983).
- 5) Luke, M. A., Eroberg, T. E., Doose, G. M., Masumoto, H. T.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. **64**, 1,187~1,195 (1981).
- 6) Luke, M. A., Masumoto, H. T., Cairns, T., Hundler, H. K.: *ibid.* **71**, 415~433 (1988).
- 7) Kobayashi, H., Kojima, M. Matuno, O., Goto, S.: J. Pesticide Sci. **4**, 463~472 (1979).
- 8) 小林裕子: 日本農薬学会誌 **17**, S125~S136 (1992).
- 9) 河合 聡: “ガスクロマトグラフィー入門” p. 48~50 (1991) 三共出版, 東京.
- 10) 岡原光男: “機器分析のてびき (スペクトルによる構造決定法)” p. 97 (1979) 化学同人, 東京.