

LC/MS/MSによる柑橘類中の残留農薬測定におけるイオン化抑制

Effect of Ion suppression on the determination of pesticide residues in the citrus fruits using LC/MS/MS

山辺真一・肥塚加奈江・山本 淳・田邊英子・今中雅章（衛生化学科）

Sinichi Yamabe, Kanae Koeduka, Jun Yamamoto, Eiko Tanabe and Masaaki Imanaka

【調査研究】

LC/MS/MSによる柑橘類中の残留農薬測定におけるイオン化抑制

Effect of Ion suppression on the determination of pesticide residues in the citrus fruits using LC/MS/MS

山辺真一・肥塚加奈江・山本 淳・田邊英子・今中雅章（衛生化学科）

Sinichi Yamabe, Kanae Koeduka, Jun Yamamoto, Eiko Tanabe and Masaaki Imanaka

要 旨

LC/MS/MSによるオレンジ等4種類の柑橘類中の残留農薬測定におけるイオン化抑制の検討を行ったところ、いよかんが最も強いイオン化抑制を受け、レモンはほとんどイオン化抑制を受けなかった。また、いよかん等では外果皮中の成分がイオン化抑制に大きく関与していることが明らかになった。イオン化抑制の対策としては、まず第一に定量目的に応じた希釈が簡便かつ有効な方法と考えられた。

[キーワード：イオン化抑制，希釈効果，残留農薬測定，LC/MS/MS]

1. はじめに

平成18年5月29日の食品中に残留する農薬等に関するポジティブリスト制度の施行に伴い、多数の農薬に対する一斉分析法が示され、LC/MS/MSを用いる方法が有力な手法として採用された。一般的にはLC/MS/MSを用いる測定ではマトリックスの影響を受けにくいとされるが、実サンプルではイオン化抑制により感度低下を起こす場合があることが知られている¹⁾。厚生労働省のホームページ掲載の資料²⁾にも全46農薬中6農薬がオレンジでイオン化阻害を受けると記載されている。また著者らの実験でも上記農薬²⁾とは別の3農薬でイオン化抑制が認められた。このことから他の農薬類でもイオン化抑制が起こるのではないかと考え、オレンジ等4種類の柑橘類のイオン化抑制について若干の検討を行ったので報告する。

2. 実験方法

2.1 試料

岡山県内で販売された柑橘類4種類4検体を用いた。その内訳はネーブルオレンジ（アメリカ産）1検体、レモン（アメリカ産）1検体、グレープフルーツ（アメリカ産）1検体、いよかん（愛媛県産）1検体、合計4検体。

測定対象農薬はイオン化抑制の起きる農薬としてベンゾピシクロン、クロマフェノジド、クミルロン、ダイムロン、メパニピリム、メトキシフェノジド、ナブ

ロアニリドの7農薬を、対照としてイソキサフルトールを選定した。

2.2 試薬及び標準液

農薬標準品：和光純薬(株)社製

その他の試薬：残留農薬分析用，LC/MS用試薬を用いた

固相カラム：スペルコ社製 ENVI-Carb/LC-NH₂カラム 6mL (500mg/500mg)

2.3 装置及び測定条件

2.3.1 HPLC条件

(装置) 島津製 LC-20A 高压グラジエントシステム

(分析カラム) Waters製 XTerra MS C18, 3.5 μ m, 150 x 2.1mm

(移動相流量) 0.2mL/min (注入量) 5 μ L

(カラム温度) 40 $^{\circ}$ C

(グラジエント)

A: 5m mol/L 酢酸アンモニウム含有H₂O

B: 5m mol/L 酢酸アンモニウム含有CH₃OH

15%B(0min)→40%B(1min)→40%B(3.5min)→50%B(6min)→55%B(8min)→95%B(17.5min)→95%(30min)→15%B(31min) linear

Total run time : 47min

2.3.2 LC/MS/MS条件

(装置) Applied Biosystems 製 API3200 QTrap

LC/MS/MS system

(インターフェース) Turbo V source

(イオン化モード) ESI positive mode

(イオン源パラメーター)

Curtain Gas : 20psi , Collision Gas : 4psi ,

IonSpray Voltage : 5000V , Temperature : 550℃ ,

Ion Source Gas1 : 60psi , Ion Source Gas2 : 80psi

Interface Heater : ON

(測定モード) : MRM法

2.4 試験溶液の調製およびイオン抑制の測定

試験溶液の調製は公定法³⁾の「LC/MSによる農薬等の一斉試験法 I (農産物)」によった。Matrix STDの調製は試験溶液調製の最終段階の4mLメタノールで溶解する代わりにSTDメタノール溶液 (0.25 μg/mL)で溶解することにより作成した。

イオン化抑制の測定は、Matrix STDおよび溶媒STDをそれぞれメタノールで希釈 (1, 2.5, 25, 250倍)したものをMRM測定し、両者の比較により行った。

3 結果及び考察

3.1 柑橘の種類による差

農薬別の「Matrix STD/溶媒STD」の値を種類別に図1に示した。この図より各農薬はいよかんにおいて最も強いイオン化抑制を受け、次いでオレンジ、グレープフルーツの順となりレモンではほとんどイオン化

抑制を受けていなかった。しかし、農薬の種類によっては、レモンによるイオン化抑制が生ずる可能性も考えられる⁴⁾。また、いよかんにおいてダイムロン、メトキシフェノジドが強いイオン化抑制を受け、両農薬のリテンションタイムが15.7, 15.8とはほぼ一致していることから、この時間の夾雑ピークの影響と考えられた。しかし、ベンゾビスクロンもリテンションタイムが15.7と同一にもかかわらずイオン化抑制の影響は前二者の農薬ほど強くないので、農薬の構造による差もあるものと考えられた。

3.2 外果皮の有無による差

分析に供した柑橘類は果実全体を分析部位としたが⁵⁾、外果皮中の成分によるイオン化抑制への影響を見るために、オレンジについて外果皮を除いたものを分析し、比較検討を行った。その結果、外果皮を除いたものについては全くイオン化抑制を受けていないことが明らかとなった。

3.3 トータルイオンクロマトグラム (TIC)

各抽出液および標準液のTIC (Q1)を図2に示した。標準液では対照のイソキサフルトール (13.7min) 以外のリテンションタイムは15.73~16.38minに6農薬、少し離れてナプロアニリドが16.87minとなった。また、オレンジ、いよかん、グレープフルーツ抽出液のTICでは15.8, 16.1, 16.8min付近に大きな夾雑ピークが

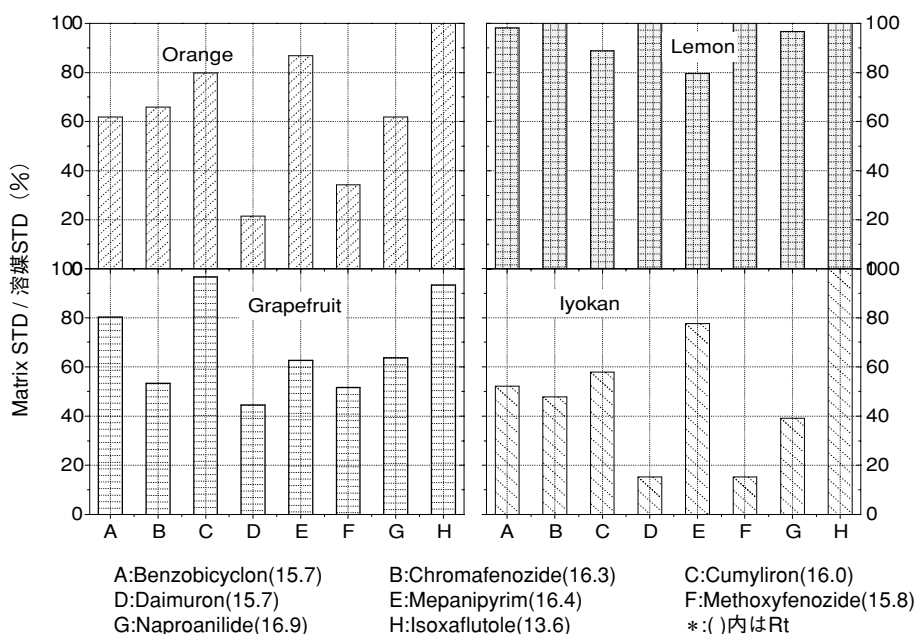


図1 農薬別のMatrix STD/溶媒STD

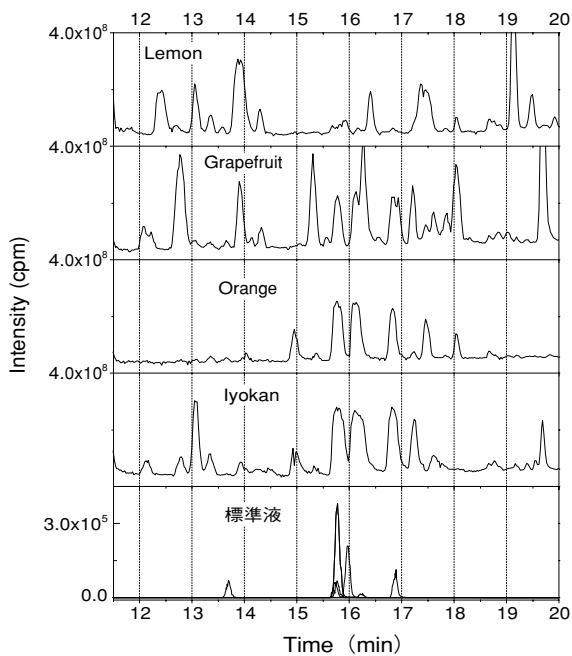


図2 柑橘類抽出液および標準液のTIC

あり、これらは農薬のピークと重なるので、イオン化抑制の主原因になっていると考えられた。一方、レモンにはこの時間のピークがなく、イオン化抑制も3.1で述べたとおり認められなかった。

3.4 希釈効果

精度の良い分析結果を得るためには、イオン化抑制の影響を最小限に抑えることが必要である。イオン化抑制の回避には一般的に希釈が効果的とされているので、希釈倍率とMatrix STD/溶媒STDの関係を検討した(図3)。

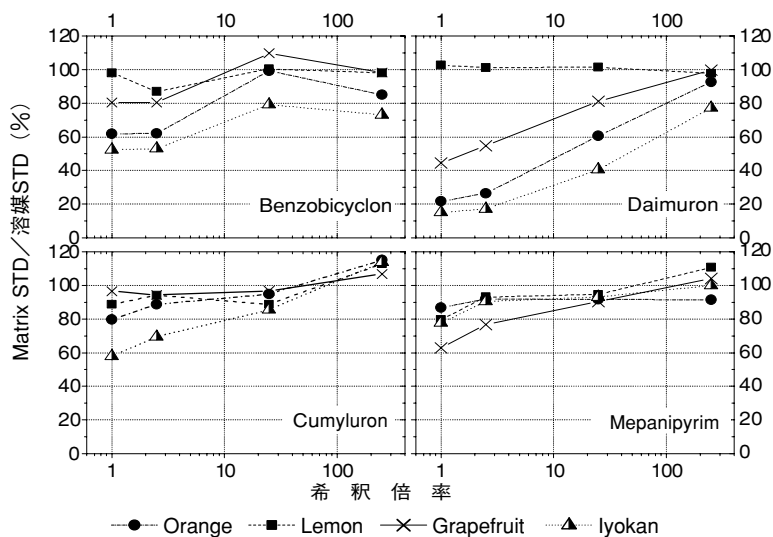


図3. 希釈によるMatrix STD/溶媒STDの変化

この図より希釈による改善効果は、農薬により異なっており、図3左上のベンゾビシクロンでは2.5倍希釈ではあまり変化は見られないが25倍希釈でイオン化抑制の回避効果が顕著となった。左下のクミルロンではイオン化抑制を強く受けていたいよかんが希釈に比例して改善した。右上のダイムロンは改善効果が最も顕著であった。いよかん、オレンジで希釈前には20%程度であったものが25倍希釈で40~60%となり、250倍希釈で80%程度まで改善した。右下のメパニピリムではグレープフルーツで希釈前の約60%が25倍希釈で約90%まで改善が見られた。以上のように希釈により一応の効果が得られるので、イオン化抑制が予想される場合は、まず第一に希釈が簡便で有効と思われた。しかし、希釈による改善が悪い場合および希釈が困難な場合(定量目的物質が低濃度の場合)はマトリックスSTDを使用することにより、イオン化抑制が相殺されるので非常に有効と考えられた。将来的には対象農薬の安定同位体をサロゲート物質として使用することにより、さらに測定精度が向上するものと思われる。

3.5 原因物質の推定の試み

イオン抑制の原因物質を究明するため、Q1スキャン(ポジティブ)測定を行い、該当ピークのスペクトルを図4に示した。下段のスペクトルより親イオンの分子量が403.1, 433.4, 373.1であるので目的物質の分子量は402.1, 432.4, 372.1と推定された。オレンジ精油中の既知成分ではないかと考え、リモネン、リナロール、酢酸リナリル、ボルネオール等を検討した

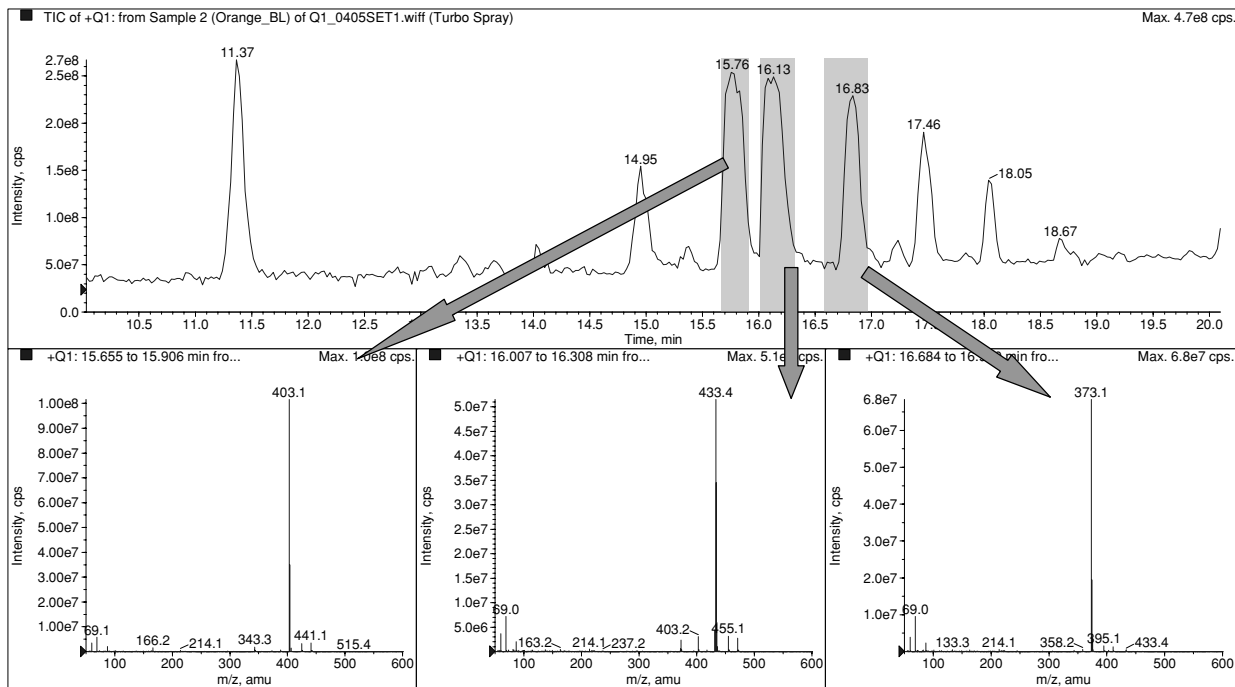


図4 オレンジ抽出液のQ1スキャン&スペクトル

が何れも分子量、リテンションタイムが異なっており、原因物質の特定には至らなかった。

4 まとめ

- 1) 今回の実験に供した農薬ではいよかんが最もイオン化抑制を受け、次いでオレンジ、グレープフルーツの順となりレモンはほとんどイオン化抑制を受けなかった。
- 2) 柑橘類のイオン化抑制の原因物質は特定できなかったが、外果皮中に存在し、複数の物質であることが判明した。
- 3) イオン化抑制を回避するためには、希釈が有効であった。希釈が困難な場合および高精度が要求される場合はマトリックスSTDの使用が有効と考えられた。

文 献

- 1) Nelson M. D., Dolan J. W. : Ion Suppression in LC-MS-MS. A Case Study, LC GC North Am , Vol.20, 24-

32, 2002

- 2) 食品に残留する農薬等のポジティブリスト制度に係る分析法の検討状況について

<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/positivelist/040806-1.html>

農作物:LC/MS一斉分析法の検討結果(2)回収率

<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/positivelist/dl/040806-112.pdf>

- 3) 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，食安発第1129002号，平成17年11月29日
- 4) 藤原靖士，森志伸，岡本潮里，笠松達人：LC/MS/MSによる残留農薬一斉分析法の検討，第91回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集，P40，2006
- 5) 厚生労働省監修：食品衛生検査指針，11-12，社団法人日本食品衛生協会，東京，2003