

**日本農薬学会**  
**農薬科学研究成果報告書**  
 (令和\_\_元\_\_年度研究奨励金交付課題)

研究課題

本当に正確な残留農薬分析法の実現～同位体希釈分析における食品成分起因の同位体分別の機構解明

筆頭研究者氏名      鎗田 孝

所属                      茨城大学農学部

共同研究者名 (所属)

なし

研究成果 (目的・方法・成果の順に概要を記載してください)

**【研究の目的】**

残留農薬分析では、分析試料から調製した試料溶液と標準液のマトリックスが大きく異なることが多い。そのため、機器分析における対象農薬の応答が両者で異なってしまうマトリックス効果が起こり、“真の”残留濃度から偏った分析値が得られる場合がある。このマトリックス効果の影響を低減する手法はいくつかあるが、なかでも分析対象農薬の安定同位体標識体を内標準に用いる同位体希釈質量分析法 (IDMS) は、絶対的な正確さを有する一次標準測定法の一つに挙げられており、標準物質の値付け分析や技能試験における参照値の付与のための分析に適用されてきた。これに対し報告者らは、分析対象農薬の重水素標識体を内標準に用いた GC/MS による IDMS においても何らかの同位体分別が生じるために、マトリックス効果が分析結果に与える影響を完全に排除できないことを報告した (J. Chromatogr. A, 1396, 109, 2015)。そして、その現象は試料溶液のマトリックスの種類に依存することも見出した。そこで本研究では、同分析における試料溶液中のマトリックス量の違いが、得られる分析値に及ぼす影響を検証した。

**【方法】**

9種類の農薬 (Native) とその重水素標識体を検討の対象とした。検討に用いた試験溶液は、質量比混合法を適用することにより、可能な限り精確に調製した (図1)。まず、9種類の農薬の混合溶液と重水素標識体の混合溶液を別々に調製し、さらに両者を異なる混合比で

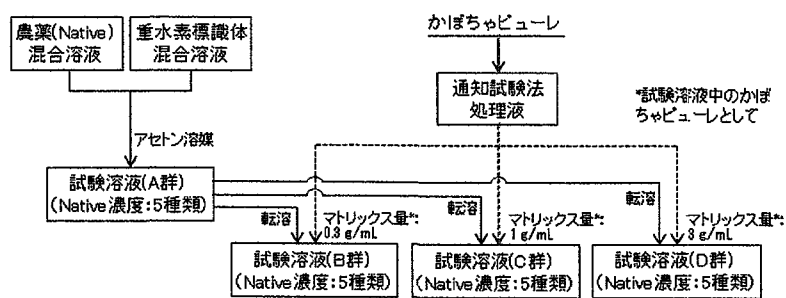


図1 試験溶液の調製手順。

\*マトリックス量は試験溶液中の濃度換算量を示す。

混合して試験溶液 A 群 (Native 濃度 : 6 レベル) を調製した。一方, 通知試験法 (GC/MS による農薬等の一斉試験法) に準じてかぼちゃピューレの前処理液を調製し, 試験溶液 A 群によって溶媒置換することにより, マトリックスマッチングした試験溶液 B~D 群 (各 Native 濃度 : 6 レベル) を調製した。調製した溶液の溶媒はすべてアセトンであり, 試験溶液 A~D 群中の農薬 (Native) の濃度 : 0.2~5.0  $\mu\text{g/mL}$ , 重水素置換体の濃度 : 1.0  $\mu\text{g/mL}$  とし, 前処理に用いたかぼちゃピューレ量は試験溶液中の濃度として B 群 : 0.3 g/mL, C 群 : 1 g/mL, D 群 : 3 g/mL とした。

試験溶液の GC/MS 測定は Agilent Technology 製 GC/MS 装置 (7890A/5975C) 他によって行った。その際, 直前に GC に注入した試料のマトリックスがピーク面積に影響する可能性があることから (J. Chromatogr. A, 1138, 26, 2007), 試験溶液の注入順は試験溶液の種類や Native 濃度にかかわらずにランダムとし, かつ, Native と重水素標識体のピーク面積比は 3 回測定の平均値を採用した。

### 【結果および考察】

本検討に先立ち, MS の電子イオン化に起因する同位体分別が生じるかを検証した。試験溶液の種類や電子線のエネルギーを変化させて農薬 (Native) とその重水素標識体のフラグメントイオンの強度とマトリックスと量との関係を検証したが, 明確な同位体分別は確認できなかった。

IDMS は内標準法の一つとも考えられ, その検量線 (関係線) は重水素標識体に対する農薬 (Native) の含有比を横軸に, また面積比を縦軸に取ることによって得られる。本研究の検討の結果, すべての農薬について, 試験溶液 B~D 群の関係線の傾きは試験溶液 A の傾きよりも小さかった。4 種類の試験溶液間で農薬 (Native) と重水素標識体の含有比は完全に一致するため, GC 分離などにおいて何らかの同位体分別が生じたことが示された。

関係線の傾きの違いの程度は農薬の種類によっても異なり, 試験溶液 C 群と試験溶液 A 群とを比較結果では, 両者の傾きの比は 1.01 (クロルピリホス)~1.10 (フェニトロチオン) であった。フェニトロチオンは他の農薬よりもマトリックス効果の影響が顕著であり, IDMS を適用した場合でも得られる分析値が真値から 10 % 程度偏る可能性が示唆されるため, 認証値や参照値の付与を目的とする分析においては特に注意が必要である。また, この傾向は試料溶液中のマトリックス量が多いほど顕著でもあった。一例として, 試料溶液 A~D 群中のフェニトロチオンの関係線を比較する (図 2)。試料溶液 D 群と試料溶液 A 群の関係線の傾きは 16 % も異なった。

GC/MS 装置によるマトリックス効果の影響の差を検証するために, 上記の検討に用いた GC/MS 以外の 2 機種を用いて試料溶液 A と試料溶液 C から得られる関係線を比較した。しかしながら, 3 回測定の再現性が良好とは言えず (前記の通り直前に分析した試料のマトリックスが影響したものと考えられた), 明確な考察は困難であった。

### 【まとめ】

本研究により IDMS を適用した場合でも, 農薬の種類やマトリックス量に応じて得られる分析結果が真値から偏り得ることが確認された。その原因として GC 分離等における同位体分別が考えられたが, それを確認するためには更なる検討が必要である。

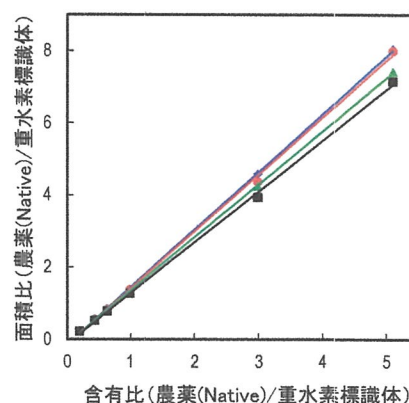


図 2 フェニトロチオンの IDMS による農薬 (Native) とその重水素標識体の含有比および面積比の関係線。

● : 試験溶液 A; ◆ : 試験溶液 B; ▲ : 試験溶液 C; ■ : 試験溶液 D.