

液体クロマトグラフ-三連四重極型質量分析計を用いた残留農薬検査について —複数の測定モードによる分析の有用性—

1. はじめに

農薬は、農業生産における害虫や雑草の防除等に用いられ、農産物の生産性向上と農業者の労働力軽減に大きく貢献している。その一方で、食品に残留した農薬はヒトの健康に悪影響を生じる恐れがあるため、食品衛生法に基づき食品中の残留基準が定められ、厳しく規制されている¹⁾。本基準は順次改正が行われ、現在では、原則農産物及び畜水産物等の全ての食品に対し、全ての農薬が規制対象となっている²⁾。これに伴い、検査機関では、より多くの農薬を分析対象とする必要性が出てきており、効率的かつ信頼性の高い多成分分析法が求められている。

液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LC-MS/MS) 又はガスクロマトグラフィー-タンデム質量分析 (gas chromatography-tandem mass spectrometry; GC-MS/MS) は、多成分からなる試料に対しても選択性が良く、網羅的な分析が可能であり、医薬品、食品、環境、化学工業及び法医学等、幅広い分野で普及している分析手法である。特に、LC (または GC)-三連四重極型質量分析 (triple quadrupole tandem mass spectrometry; QqQMS) は、高感度で定量性に優れているため残留農薬検査に適している³⁻⁶⁾。しかし、様々な食品を取り扱うことの多い残留農薬検査では、時に食品中の成分が農薬と誤解されるような非常に

似通ったピークとして出現することがある。そのような場合、誤同定を防ぐための確認方法が重要となる。

LC-MS/MS 分析はいくつかの有用な測定モードを備えており、複数のモードを活用することは誤同定を防ぐ方法の一つと考えられる。実際に、当研究所が実施した検査において、農薬成分と見分けのつかない夾雑物ピークを検出し、複数のモードを用いて検証した事例がある。ここでは、LC-QqQMS に焦点をあて、その原理と測定モードについて解説し、併せてその事例について紹介する。

2. LC-QqQMS

LC-QqQMS は、大きく 4 つのパートから構成され、質量分離部に 3 つの四重極が用いられる装置である (図 1)。はじめに、LC に注入された試料溶液は、クロマトグラフィーの原理に基づき測定成分が分離され、順次、質量分析装置のイオン化部に送られる。イオン化部では、各成分は“+”あるいは“-”の電荷が付加され、質量に基づいて分離できる状態 (イオン) へと変換される。生成したイオンは質量分離部に送られる。質量分離部の Q1 と Q3 はマスフィルターとしての役割を担い、通過するイオンの質量幅を設定することで、多くの不純物イオンの中から選択的に目的イオンのみを通過させることができる。q2 は主に衝突室 (コリジョンセル) として用いられ、Q1 を通過したイオン (プ

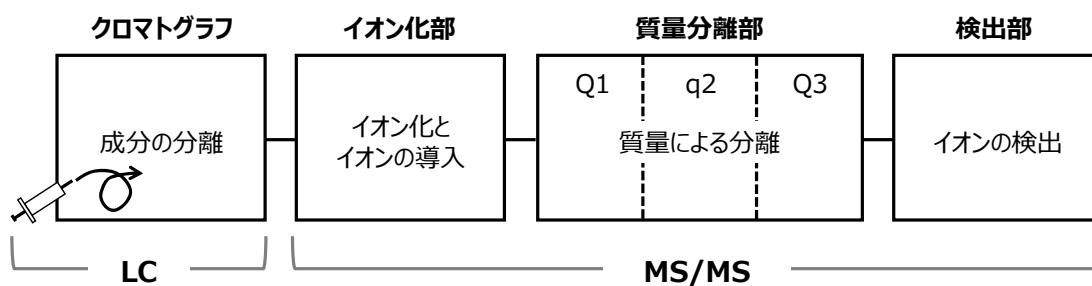


図1 LC-QqQMSの構成

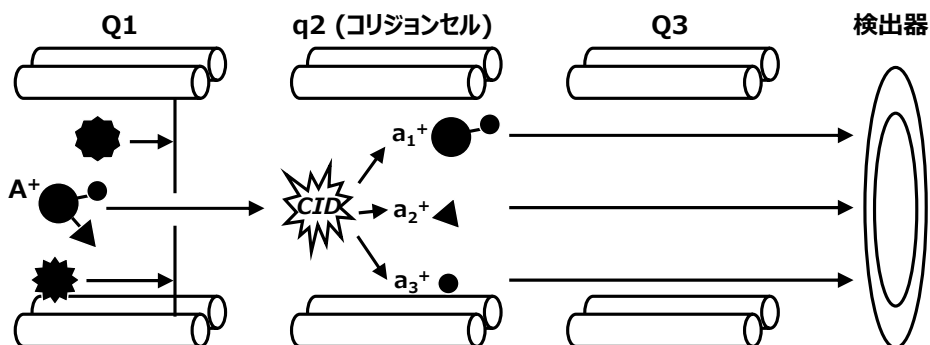


図2 プロダクトイオンスキャン

レカーサーイオン)に窒素やアルゴンなどのコリジョンガスを衝突させ、化学構造を開裂させる。Q1で選択したプレカーサーイオン、あるいは開裂して生成したプロダクトイオンを検出部に導入することにより、分子の質量だけでなく部分構造の質量など、化合物を特定するための有用な情報が得られる。

LC-QqQMSでは、プロダクトイオンスキャン、プレカーサーイオンスキャン、ニュートラルロススキャン及びMRM等のいずれかの測定モードが使用される⁷⁾。これらのうち、残留農薬分析に有用なモードとしてプロダクトイオンスキャンとMRMがある。

2. 1. プロダクトイオンスキャン

図2にQqQMSの質量分離部を簡単に図示した。プロダクトイオンスキャンでは、Q1で選択したイオンA⁺のみをq2に誘導し、次いでコリジョンガスをq2に導入し、イオンに衝突させる。構造中の弱い結合部分から開裂が起こり、フラグメント化する(collision induced dissociation; CID)。次のQ3マスフィルター

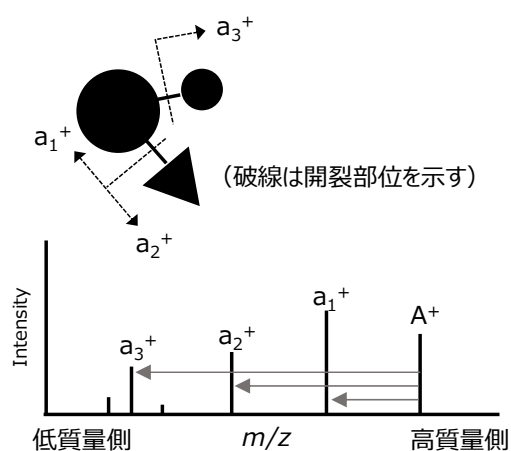


図3 MS/MSスペクトル

では、生成したプロダクトイオン(開裂しなかったプレカーサーイオンを含む)をすべて検出器に導入する。横軸に質量と価数の比(m/z)、縦軸に強度が表示されたMS/MSスペクトルが得られる(図3)。複雑な混合物試料でも、Q1で目的のプレカーサーイオンのみを選択することにより、そのイオンの構造を反映するイオンがスペクトル上に観測される。

q2 のコリジョンエネルギー (CE) の強度により、フラグメンテーションパターンは変化する。弱いエネルギーであれば、フラグメンテーションは起こりにくく、MS/MS スペクトル上ではプレカーサーイオンを含めた比較的高質量のプロダクトイオンが観測されやすくなる (図 4)。また、強いエネルギーを用いれば、より CID が進行し、低質量のプロダクトイオンが観測される。試料中から疑わしい成分が検出された場合は、測定対象物の標準品を用いて、同じ CE で取得した MS/MS スペクトルを照合することで識別が可能となる。また、本モードは対象物の部分構造情報が多く得られるため、構造解析にも用いられる。

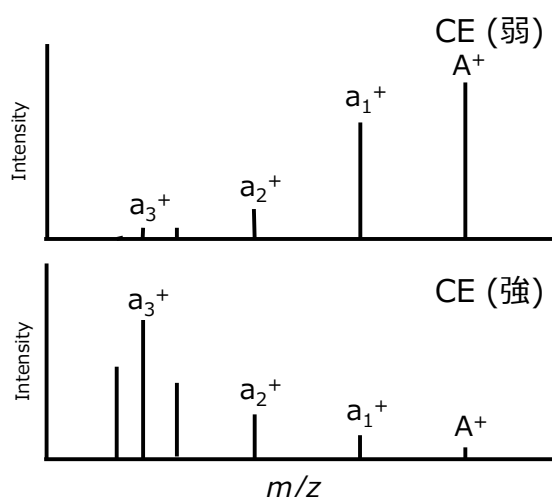


図 4 異なる CE により測定した MS/MS スペクトル

2.2. MRM

プロダクトイオンスキャンでは、マスフィルターとして Q1 のみを用いるが、MRM は Q1 に加え Q3 のマスフィルターを設定 (トランジション設定) することで、通過できるイオンをさらに限定する。図 5 のように、Q1 で選択されたプレカーサーイオン A^+ から生成したプロダクトイオンのうち、Q3 において a_2^+ のみを選択する。ほかの測定モードと比べ、

- ① Q1/Q3 の 2 段階のイオン選択によりバックグラウンドノイズが小さくなる。
- ② MS/MS 測定モードの中で最も検出限界値が低く、高感度な定量分析に向いている。
- ③ 各測定対象物の予想される保持時間帯のみをモニターする Scheduled MRM を用いることで、1 度の測定で数百種類もの対象物質を精度よく定量できる。

等がこのモードの利点として挙げられる。普段の検査において、しばしば同じトランジションを持つ妨害成分のピークが出現することがある。そのような妨害ピークを誤って陽性判定しないために、定量用と確認用の 2 組のトランジションを設定することが望ましい (例: 定量用: $A^+ > a_2^+$ 、確認用: $A^+ > a_3^+$)。本モードでは、検出器に到達するイオンは選択した単一のプロダクトイオンのみであるため、それ以外の質量データは得られないという点については注意が必要である。

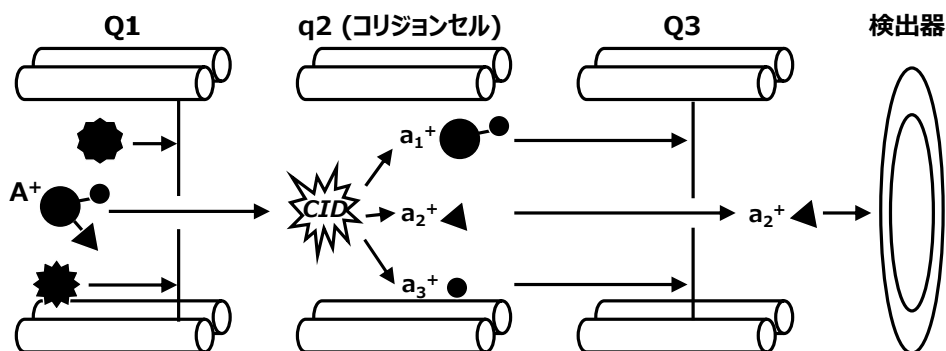


図 5 MRM

3. 複数の測定モードを活用した分析例

当研究所では、様々な分析装置を用いて農薬及びそれらの代謝物を含め、約 300 種の一斉分析を行っている⁸⁾。過去に加工食品の食物油において、MRM を用いた LC-MS/MS 測定により有機リン系殺虫剤ホレートの酸化体であるホレートスルホンに類似するピークを検出した (図 6)。定量イオン (m/z 293.0 > 170.9) に対する確認イオン (m/z 293.0 > 115.0) の強度比も標準物質のそれと類似していたことから、当該ピークはホレートスルホンの可能性が高いと考えられた。そこで、LC-MS/MS のプロダクトイオンスキャンによる再分析を行い、MS/MS スペクトルパターンが検体中のホレートスルホン様物質と標準物質で一致するか確認した。その際に、CE17 と 40 の 2 つの測定条件を設定し、同定に必要な判断情報を増やした。その結果、両条件ともに検体中のホレートスルホン様物質と標準物質のスペクトルパターンが大きく異なっていた (図 7)。この結果より、当該ピークは、ホレートスルホンとは別の成分由来であると判断した。このように、異なる測定モードを

用いることにより、クロマトグラム上では見分けられなかった農薬成分と夾雑物との識別が可能となった。

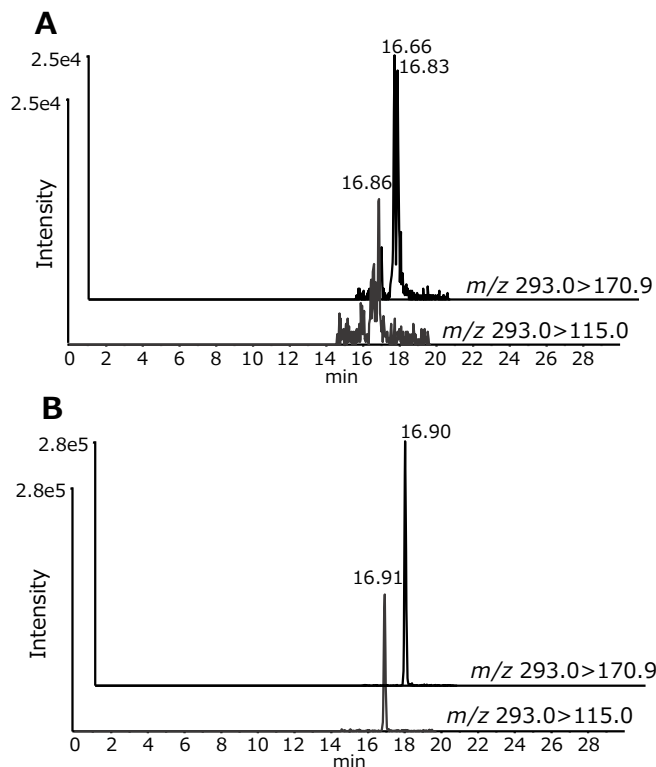


図 6 ホレートスルホン様ピークを検出した MRM の MS/MS クロマトグラム (A: 検体、B: 標準物質)

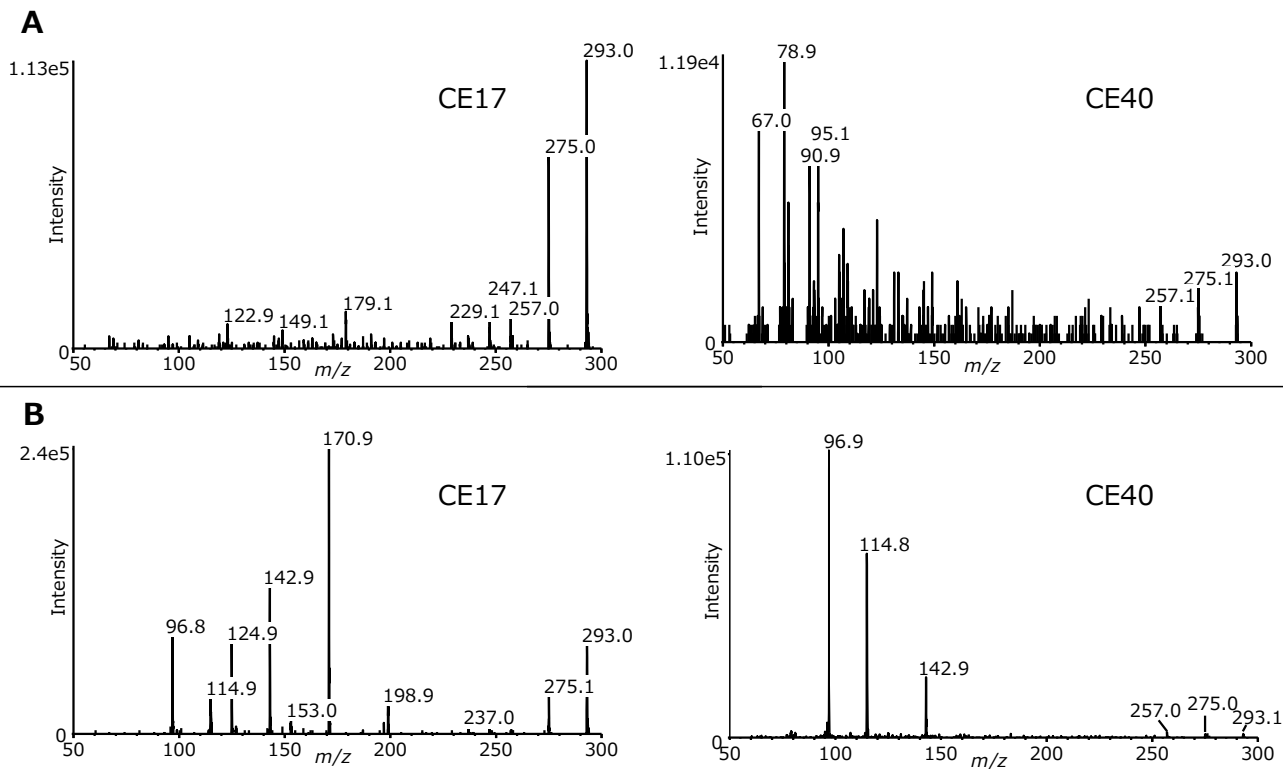


図 7 検体と標準物質の MS/MS スペクトルの比較 (A: 検体、B: 標準物質)

4. おわりに

国から通知されている残留農薬一斉分析法をはじめ、多くの検査機関が独自で開発している一斉分析法にはMRMが採用されている。これは、本モードが高感度で多くの農薬を測定するのに最も有用な方法であるからにほかならない。しかし、測定データから読み取れる情報は少ないため、疑わしいピークが検出された際にそれが本当に農薬由来であるか特定することは困難である。そのような場合は、上述のように単一の測定モードだけでなく、プロダクトイオンスキャンなど複数のモードを活用し、いくつかのデータを取り揃えた上で結果を判断することが重要であり、そのような検証する体制を築くことが食品検査における信頼性確保につながると考えられる。

5. 参考文献

- 1) 厚生省告示 370 号：食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年 12 月 28 日厚告第 370 号）
- 2) 永山敏廣：食品中残留農薬に係るポジティ

ブリスト制度（解説）、農薬誌、30、418-425（2005）

- 3) 大門 拓実：LC-MS/MS を用いた枝豆中の残留農薬迅速一斉分析法における希釈の有用性、食衛誌、62、133-137（2021）
- 4) 八巻ゆみこ：LC-MS/MS を用いたライムの残留農薬一斉分析法、食衛誌、62、33-36（2021）
- 5) 渡邊美奈恵：LC-MS/MS による農産物中残留農薬の一斉分析、食衛誌、54、14-24（2013）
- 6) 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）
- 7) 原田健一・ほか編：生命科学のための最新マスマススペクトロメトリー（2002）
- 8) 上野英二：農産物中残留農薬の多成分系統分析法の開発及び普及、農薬誌、40、178-187（2015）

（文責：衛生化学部 舘 昌彦）

愛知衛研技術情報 第46巻第2号 令和5年(2023)年 3 月 10 日

照会・連絡先 愛知県衛生研究所

〒462-8576 名古屋市北区辻町字流7番6号

愛知県衛生研究所のウェブサイト【 <https://www.pref.aichi.jp/eiseiken/> 】

総務課：	052-910-5618	生物学部	052-910-5654
企画情報部		ウイルス研究室：	052-910-5674
健康科学情報室：	052-910-5619	細菌研究室：	052-910-5669
		医動物研究室：	052-910-5654
		衛生化学部	052-910-5638
		医薬食品研究室：	052-910-5639
		生活科学研究室：	052-910-5643

代表電話： 052-910-5618

代表 FAX： 052-913-3641
