

昨年度の研究報告で、ラット腎スライスへの2,4-Dの飽和性の取り込みが観察されたことを報告した(K_m 値は26 μ M)。本年度では、腎クリアランスを安定発現系から予測するための方法論として、Oat1、Oat3のそれぞれのリファレンス化合物の輸送活性を安定発現系ならびに、腎組織切片において測定し、その輸送活性比を補正項として用いた(RAF解析)。その結果、Oat3基質となるものについては、ほぼ1:1の相関を得たが、2,4-Dについては予測値よりも実測値の方が低かった。

mRST発現細胞の2,4-Dの取り込みは、 Na^+ バッファーでは宿主細胞との間に有意な差はみられないが、High K^+ バッファーに置換すると顕著に増加した。mRST発現細胞で有意な取り込みが検出できた *p*-aminohippurate (PAH)の取り込みに対して、非標識体の2,4-Dによる阻害実験を行った。その結果、 IC_{50} 値は50 μ Mであった。

D. 考察

D-1) 農薬の代謝に関与する酵素に関する研究

ヒト肝細胞を用いた Pm の代謝実験では P450 の特異的阻害剤の中のチクロピジンやケトコナゾールで阻害され、肝細胞でも CYP2C19 や CYP3A4 で代謝されることが示唆された。これはヒト肝ミクロソームでの代謝阻害実験や遺伝子発現型酵素を用いて検討した場合、Pm の代謝に於いてはヒト肝ミクロソーム含量の高い CYP 3A4 または代謝活性が高い CYP 2C19 が働き、ついで N-脱アルキル化の特異性が高い CYP 1A2 等で代謝されると推定した結果とよい一致が見られた。

ヒトおよびラット肝細胞における Pm 代謝反応で生成する代謝物はその代謝物によってチクロピジン、オメプラゾール、トラニルシプロミンやケトコナゾール等の P450 の特異的阻害剤の感受性がヒトおよびラット肝細胞の動物種により微妙に異なることが判明した。これらは P450 分子種の違いに基因すると考えられた。

ラットより調製した単離肝細胞を Pm の代謝物の生成速度は非常に速く、一方、凍結ヒト肝細胞を用いた Pm 代謝速度は上記ラット

の場合と比べて1/100程度に低かった。この原因としては、もともとの活性に差があった可能性と凍結による影響が考えられる。今後、ラットでの場合も凍結肝細胞を用いて検討する必要がある。

D-2) ヒト型 CYP3A4 誘導検索系の開発

安定発現株の作成法として、広く一般的に用いられているゲネチシン耐性細胞の選択による方法を用いた。この方法を用いるにあたり細胞にネオマイシン耐性遺伝子を同時に導入する必要があるが、始めにこれを pGLCYP3A4-362-7.7k と1:1の割合で導入した。その結果、耐性コロニーは多数できるものの、ルシフェラーゼ活性を示す細胞がわずかしかなく、また、この細胞にリファンピシン、クロトリマゾールを処置させたところ誘導応答は得られなかった。これはネオマイシン耐性遺伝子と pGLCYP3A4-362-7.7k のコンストラクトを連結させていなかったため、ネオマイシン耐性遺伝子のみが取り込まれた可能性や、細胞に取り込まれたネオマイシン耐性遺伝子の割合に対する CYP3A4 遺伝子コンストラクトの割合が少なかったためであると考えられる。従って、次に CYP3A4 遺伝子コンストラクト：ネオマイシン耐性遺伝子の割合を5:1にし、それをタンデムに連結させたものをトランスフェクトした。その結果、薬物無処置の条件でルシフェラーゼ活性を示す細胞の割合も多少であるが増加し、誘導剤に対する応答も高くなった。薬物無処置の条件でのルシフェラーゼ活性と誘導剤処置に対するルシフェラーゼ活性の倍率に相関関係が見られなかったが、これは薬物無処置での活性が高いと薬物未処置によるルシフェラーゼ値がバックグラウンドとして非常に高くなるためであると考えられる。

我々の CYP3A4-362-7.7k のコンストラクトを用いた一次的な発現による HepG2 における誘導実験の結果では、リファンピシンよりもクロトリマゾール処置の方がより高い誘導率を示していた。今回構築した安定発現株においてもこのパターンを示す細胞がいくつか得られたが、一方で反対にリファンピシンでより強い誘導率を示すような細胞も得られた。この原因の一つとして DNA の挿入によ

り細胞の形質の変化や、取り込まれる染色体の位置などの要因が関連している可能性が考えられる。ヒト初代培養細胞や、ヒト小腸モデル細胞として用いられている LS174T 細胞に AdCYP3A4-362-7.7k を感染させた場合では、クロトリマゾールよりもリファンピシン処置の方がより高い誘導率を示すことから、リファンピシンでより強い誘導応答を示す細胞も評価系として興味深く、この細胞も合わせて以後の検討を行う必要があると考えられる。

D-3) 農薬の腎排泄に関する研究

Oat1、Oat3 のリファンピレンス化合物をもちいた RAF 解析では、予測値よりも実測値の方が小さかった。一方で、組織への取り込みクリアランスが小さいところでは、ほぼ 1 : 1 の相関がなりたっていることから、組織内への拡散が律速段階になっているものと推測される。Oat1 ならびに Oat3 の相対輸送活性を考慮すると、2,4-D の腎臓への取り込みには Oat1 が主として働いているものと考えられる。

High K⁺バッファーで、mRST 発現細胞のみで有意な取り込みが観察された。High K⁺では、脱分極が生じているために、負電荷を有する 2,4-D の取り込みが増加したものと考えている。従来から、腎臓の刷子縁膜には膜電位依存性の有機アニオントランスポーターの存在が示唆されてきたことから、RST がその候補遺伝子であると期待される。

E. 結論

ヒト肝細胞におけるプロメトリンの代謝には CYP2C19 や CYP3A4 が働いており、これらの阻害剤により相互作用が起こり得ることが示唆された。また、CYP23A4 レポーター遺伝子を培養細胞 (HepG2) の染色体に組み込み、恒常的に誘導測定可能な (高い再現性と低コスト) 実験系の樹立に成功した。更に、2,4-D の腎取り込みは Oat 1 によりほぼ説明されることが示唆された。また、管腔側の排泄メカニズムには mRST が関与していることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表 (2002 年度)

- 1) Sakemi K, Ito R, Umemura T, Ohno, Y., Tsuda M. Comparative toxicokinetic/toxicodynamic study of rubber antioxidants, 2-mercaptobenzimidazole and its methyl substituted derivatives, by repeated oral administration in rats. Arch Toxicol. 76, 682-91 (2002)
- 2) Ishida S, Jinno H, Tanaka-Kagawa T, Ando M, Ohno, Y., Ozawa S, Sawada J. Characterization of human CYP1A1/1A2 induction by DNA microarray and alpha-naphthoflavone. Biochem Biophys Res Commun. 296, 172-177 (2002)
- 3) Kurebayashi H, Harada R, Stewart RK, Numata H, Ohno, Y., Disposition of a low dose of bisphenol A in male and female cynomolgus monkeys. Toxicol Sci. 68, 32-42 (2002)
- 4) M. Ogino, K. Nagata and Y. Yamazoe. Selective suppression of human CYP3A form, CYP3A7, by troglitazone in HepG2 cells. Drug Metab. Pharmacokin., (2002) 17: 42-46
- 5) M. Furukawa, T. Okubo, M. Ogino, T. Yamazaki, M. Shimada, K. Nagata and Y. Yamazoe. Adenovirus vector-mediated reporter system for *in vivo* analysis of the human CYP3A4 gene activation. J. Biochem., (2002) 131: 71-78.
- 6) M. Miyata, E. Tamura and Y. Yamazoe. Development of an *in vitro* system detecting pro-embryotoxin. Jpn. J. Pharmacol., (2002) 89: 320-323.
- 7) M. Miyata, K. Motoki, E. Tamura, M. Furukawa, F. J. Gonzalez and Y. Yamazoe. Relative importance of maternal and embryonic microsomal epoxide hydrolase in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced developmental toxicity. Biochem. Pharmacol., (2002) 63: 1077-1084.

- 8) M. Miyata, H. Takano, K. Takahashi, Yu F Sasaki and Y. Yamazoe. Suppression of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine-induced DNA damage in rat colon after grapefruit juice intake. *Cancer Lett.*, (2002) 183: 17-22.
- 9) W. Honma, M. Shimada, H. Sasano, S. Ozawa, M. Miyata, K. Nagata, T. Ikeda and Y. Yamazoe. Phenol sulfotransferase, ST1A3, as the main enzyme catalyzing sulfation of troglitazone in human liver. *Drug Metab. Dispos.*, (2002) 30: 944-949
- 10) T. Ohta, T. Maruyama, M. Nagahashi, Y. Miyamoto, S. Hosoi, F. Kiuchi, Y. Yamazoe and S. Tsukamoto. Paradisin C: a new CYP3A4 inhibitor from grapefruit juice. *Tetrahedron*, (2002) 58: 6631-6635
- 11) Hasegawa M, Kusahara H, Endou H, and Sugiyama Y. Contribution of organic anion transporters to the renal uptake of anionic compounds and nucleoside derivatives in rat. *J Pharmacol Exp Ther*, in press (2003)
- 12) 前田和哉、杉山雄一 ヒト有機アニオントランスポーター OATP2, OATP8 の比較解析 *薬理と治療* 30(suppl.2), S417-S420 (2002)
- 13) Kato Y, Kuge K, Kusahara H, Meier PJ and Sugiyama Y. Gender difference in the urinary excretion of organic anions in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 302, 483-489 (2002)
- 14) 松島総一郎、前田和哉、設楽悦久、佐々木誠、鈴木洋史、杉山雄一 ヒト OATP2 と MRP2 を同時発現させたダブルトランスフェクタントの評価 - 肝臓における cerivastatin の経細胞輸送特性の定量的評価に向けて - *薬理と治療* 30(suppl.2), S441-S444 (2002)

2. 学会発表

- 1) 紅林秀雄, 大野泰雄: 除草剤 prometryn のヒトおよびラット肝ミクロソームにおける代謝 *日本薬学会第 123 年会* (2003.3)

H.知的財産権の出願・登録状況
なし

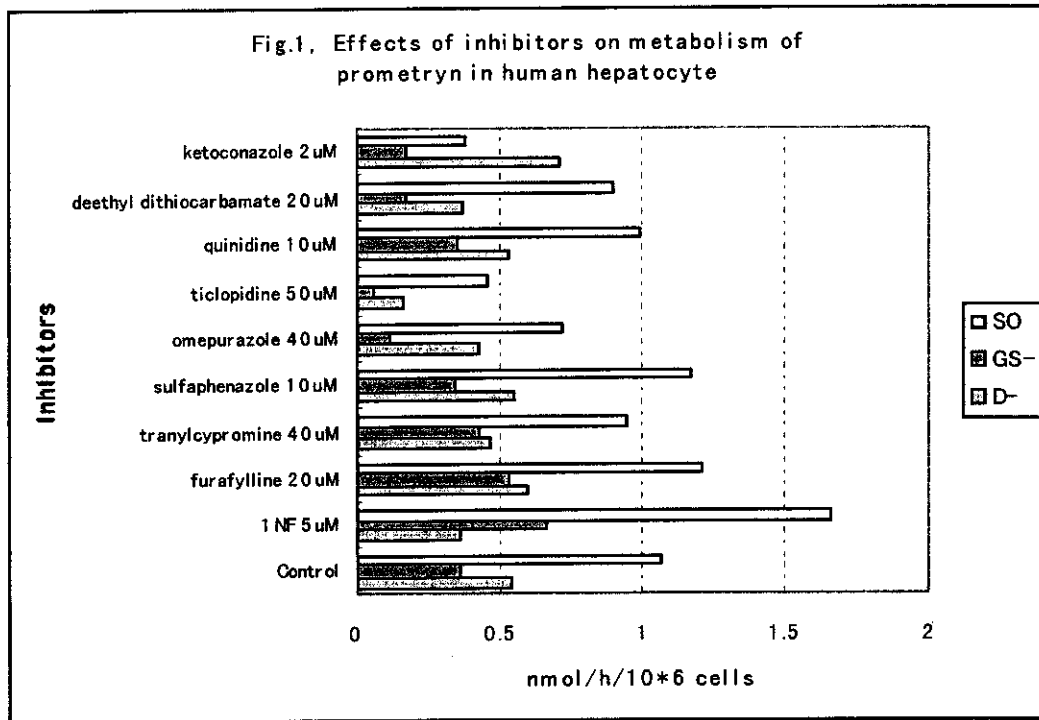


Fig 2, 恒常的CYP3A4 誘導細胞株の樹立

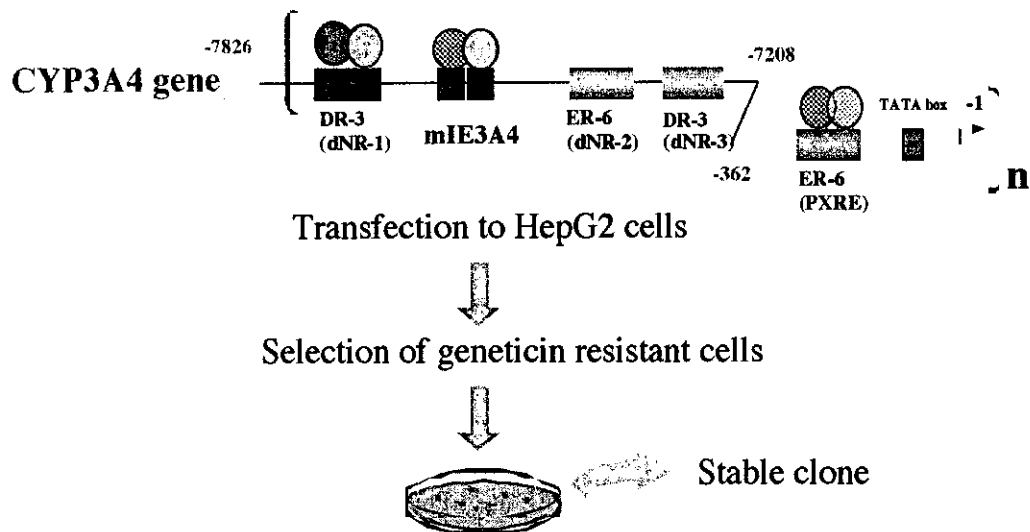


Table 1, pGL3 CYP3A4-362-7.7k 安定発現株のスクリーニング

Cell number	Rifampicin (% of control)	Clotrimazole (% of control)
2-1-2	310	107
2-1-12	223	100
2-1-18	75	29
2-2-4	110	260
2-2-12	264	36
2-2-13	320	236
3-1-9	1677	1196
3-1-10	5961	1911
3-1-20	1576	9036
3-2-5	884	132
3-2-24	465	168
4-1-2	71	307
4-1-19	191	207

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）

分担研究報告書

農薬及びその他の化学物質による動物性食品の複合汚染に関する調査研究

分担研究者 佐々木久美子 国立医薬品食品衛生研究所食品部 第一室長

研究要旨

平成 13 年度は、動物性食品中の GC/MS を用いた残留農薬スクリーニング分析法として、超臨界流体抽出(SFE : Supercritical fluid extraction)法を国立医薬品食品衛生研究所で、また、有機溶媒抽出法を兵庫県立健康環境科学研究センターで開発した。SFE 法については、平成 13 年度は肉類（牛、豚及び鶏）の分析法を開発したが、14 年度は適用食品をレバー（牛、豚及び鶏）及び魚類（筋肉及び内臓）に拡大するための検討を行い、新たにレバーに対する SFE 法を開発した。また、平成 14 年度は、開発した SFE 法及び有機溶媒抽出法を用いて、市販動物性食品（肉類、動物内臓、魚介類、くじら及び乳製品）について汚染実態調査を行った。SFE 法では、肉類 17 検体、内臓 10 検体、魚（筋肉）15 検体及び魚（内臓）4 検体について分析したところ、ほとんどの検体から DDT 類が痕跡量～33 ppb 検出された。このほか、一部の検体からヘキサクロロベンゼン、シラフルオフェン、ディルドリン、 α -BHC 及びヘプタクロルエポキシドが検出された。有機溶媒抽出法では、輸入えび 15 検体中、8 検体から飼料由来のものと思われるエトキシキン（酸化防止剤）が検出された。また、たい及びすずきから DDT 類及びクロルデン類の痕跡量が検出されたほか、くじら 5 検体中 1 検体からも DDT 類が痕跡量検出された。

協力研究者

根本 了 国立医薬品食品衛生研究所 食品部

秋山由美 兵庫県立健康環境科学研究センター健康科学部

吉岡直樹 兵庫県立健康環境科学研究センター健康科学部

A. 研究目的

先に我々は、農作物の残留農薬汚染実態調査を実施し、同一検体中に複数農薬が残

留する野菜・果実の例を報告した。食を介した農薬及びその他の化学物質による複合暴露の可能性を更に明らかにするためには、より多くの種類の食品中の汚染実態を明らかにする必要がある。農作物以外の主要食品である動物性食品については残留農薬の調査はほとんど行われていない。そこで、動物性食品についても同様の調査をすることによって、食を介した農薬による複合暴露の可能性を明らかにするとともに、農薬以外の化学物質との複合汚染の可能性についても検討することを目的とした。

平成13年度は、動物性食品中のGC/MSを用いた残留農薬スクリーニング分析法として、国立医薬品食品衛生研究所において超臨界流体抽出(SFE: Supercritical fluid extraction)法を、兵庫県立健康環境科学研究所センターにおいて有機溶媒抽出法をそれぞれ開発した。平成14年度は、分析法の適用食品の拡大について検討するとともに、確立した分析法を用いて、市販食品の汚染調査を行った。なお、図1に有機溶媒抽出法及びSFE法の概略を示した。

A-1. 超臨界流体抽出法

平成13年度は肉類を対象とした分析法を開発したが、平成14年度は適用食品をレバー(牛、豚及び鶏)及び魚類(筋肉及び内臓)に拡大するための検討を行い、新たにレバーに対するSFE法を開発した。開発した方法は魚内臓へも適用可能であった。また、確立した方法を用いて市販食品(肉類、動物内臓及び魚類)の汚染調査を行った。

A-2. 有機溶媒抽出法

平成13年度に開発した分析法を用いて、

市販食品(乳製品、魚介類及びくじら)の汚染調査を行った。

B. 研究方法

B-1. 超臨界流体抽出法

1. 試料

試料は、いずれも東京都内の小売店で購入し、ホモジナイザーで均一化したものを分析に用いた。レバーのSFE法の検討及び添加回収実験では、牛、豚及び鶏の肝臓を重量比で1:1:1の割合で混合し、ホモジナイザーで均一化したものを検討用試料とした。また、肉の添加回収実験では、牛挽肉、豚挽肉及び鶏挽肉を1:1:1で混合し均一化したものを使用した。魚(筋肉及び内臓)の添加回収実験では、アジ及びイワシを1:1の割合で混合し均一化して検討用試料とした。

2. 試薬及び試液

試薬: アセトニトリル(MeCN)、アセトン、n-ヘキサン(ヘキサン)、ジエチルエーテル(エーテル)及びメタノール(MeOH)は残留農薬分析用試薬(和光純薬工業(株)または関東化学(株)製)を使用した。トリエチルアミン(TEA)は試薬特級(和光純薬工業(株)製)を使用した。SFEでは純度99.999%の液化炭酸ガス(CO₂)を抽出用に、また純度99.99%のCO₂を冷却用に使用した。セライトは和光純薬工業(株)製のセライトNo.545を使用した。ジエチルアミノプロピル(DEA)はVarian社製のBondesil-DEA(40 μm)を使用した。シリカゲル(Kieselgel 60 1.09385, 230-400 mesh, 粒子径40-63 μm, Merck社製)は、130°Cで24時間以上活性化し、デシケーター中で放冷後使用した。

10%含水シリカゲル: シリカゲル90gに対し水10gの割合で加え、密栓して時々振

り混ぜながら30分以上放置したものを使用した。

ガラス繊維ろ紙：Whatman GF/F
(Whatman社製，直径約1 cmにコルクボーラーで切り抜いた) シリカゲルカートリッジカラム：Sep-Pak Plus Silica (690 mg, Waters社製)

農薬標準品：いずれも林純薬工業(株)，関東化学(株)，和光純薬工業(株)またはRiedel-de Haën社製の残留農薬試験用試薬を用いた。表1には検討に用いた農薬を示した。なお，アルジカルブはGC注入時に容易に分解するため分解物を測定した。

農薬標準原液：各農薬標準品をヘキサンで溶解して（溶解しにくい場合には，できるだけ少量のアセトンで溶解後，ヘキサンで希釈して）1 mg/mLの濃度に調製し，冷凍庫(-30°C)に保存した。

農薬標準混液：各農薬標準原液をとり，アセトンを加えて10 µg/mL(アセフェート，アルジカルブ，イプロジオン，イマザリル，カプタホール，チアベンダゾール，メタミドフォス及びプロパモカルブは50 mg/mL，アセタミプリド，イミベンコナゾール代謝物2，イプロジオン代謝物，オキサミル，トリシクラゾール及びバミドチオンは100 µg/mL)の濃度に調製し，冷凍庫(-30°C)に保存した。

3. 装置

SFE装置：Hewlett Packard 社製 HP7680T.

GC/MS：Hewlett Packard 社製ガスクロマトグラフHP6890（オートサンプラーHP7683付）及び同社製質量分析計HP5973を使用した。

ホモジナイザー：マルチブレンダーミル（株）日本精機製作所製

4. SFE条件

4-1. 肉類の方法

CO₂密度：0.75 g/mL，抽出温度：64°C，圧力：235 bar (3415 psi)，CO₂流速：3.0 mL/min，静的モディファイヤー：MeOH (0.35 mL)，平衡化時間：1 min，動的抽出時間：50 min，ノズル温度：70°C，プレノズルフィルター温度：70°C，トラップ：Hypersil octadecylsilane (ODS：粒子径30 µm)，トラップ温度：30°C。トラップはMeCN 1.7 mL (2 mL/min, 55°C)で溶出しこれをSFE抽出液とした。その後トラップは4% TEA含有アセトン(4% TEA/A) 4.0 mL (2 mL/min, 50°C)及びMeCN 2 mL (2 mL/min, 50°C)で洗浄及びコンディショニングを行った。なお，添加回収実験では4% TEA/A溶出液1.8 mLを脂肪量測定のために分取した。

4-2. レバーの方法

次に記載の条件以外は，肉類の方法と同じ条件を使用した。CO₂密度：0.85 g/mL，抽出温度：40°C，圧力：211 bar (3058 psi)，静的モディファイヤー：MeOH (0.6 mL)，動的抽出時間：30 min。

5. 試験溶液の調製

5-1. 肉類の方法

試料10.0 gを乳鉢にとり，試料と等量のセライト（10.0 g）を加えよく混合した。この試料混合物2.0 g（試料1.0 g相当）を底部にガラス繊維ろ紙を入れた抽出管にとり，試料上部にガラス繊維ろ紙をのせた。続いて10%含水シリカゲル1.0 gを加えた後，ガラス繊維ろ紙をのせ，更にDEA 0.75 gを加え，ガラス繊維ろ紙をのせた。抽出管の底部のガラス繊維ろ紙に，静的モディファイヤーとしてMeOH 0.35 mLを添加した。SFEを実施する場合には抽出管のDEAが充填された側を上にして行った。得られたSFE抽出液は窒素気流で溶媒を除去した後，ア

セトン0.5 mLを加えて溶解し、これを試験溶液とした。なお、本法は、肉類、牛タン及び魚（筋肉）の分析に使用した。

5-2. レバーの方法

試料10.0 gを乳鉢にとり、試料の1.1倍量のセライト（11.0 g）を加えよく混合し、得られた試料混合物1.05 g（試料0.5 g相当）を抽出に用いた。また、DEA は2.5 g使用し、静的モディファイヤーに用いるMeOHは0.60 mLを使用した以外は、肉類と同様に操作して試験溶液を調製した。なお、本法は、レバーなどの哺乳動物の内臓及び魚（内臓）の分析に使用した。

6. 追加クリーンアップ

妨害ピークが15.6分付近に現れることがあったが、その場合にはシリカゲルカートリッジカラムを用いて追加クリーンアップを行った。すなわち、試験溶液0.3 mLをバイアルに取り、溶媒を窒素気流で除去した後、2%エーテル含有ヘキササン(E/H) 1 mLに溶解し、あらかじめ2% E/H 10 mLで洗浄したシリカゲルカートリッジカラムに注入した。まず、2% E/H 15 mLで溶出し、この画分は捨て、次に30%アセトン含有ヘキササン15 mLで溶出した。溶出液は溶媒を留去後、アセトン 0.3 mLを加えて溶解し、これを試験溶液とした。

7. 添加回収実験

肉、レバー及び魚（筋肉及び内臓）を用いて添加回収実験を行った。肉及び魚（筋肉）の添加回収実験では、試料に0.1 µg/g（アセフェート、アルジカルブ、イプロジオン、イマザリル、カプタホール、チアベンダゾール、メタミドフォス及びプロパモカルブは0.5 µg/g、アセタミプリド、イミベンコナゾール代謝物2、イプロジオン代謝物、オキサミル、トリシクラゾール及

びバミドチオンは1 µg/g）になるように農薬標準混液を添加し10分間放置したものを試料とした。レバー及び魚（内臓）の添加回収実験では、肉及び魚（筋肉）の2倍濃度を用いた。

8. 脂肪量の測定

SFE抽出液の溶媒を窒素気流下で留去して残留物の重量を測定し、これをSFE抽出液の脂肪量(Wa)とした。同様に、脂肪測定用に分取した4%TEA/A画分の脂肪量(Wb)を求めた。WaとWbの合計をSFEで得られた全抽出脂肪量とした。なお、厳密にはSFE、有機溶媒抽出ともに脂肪のみが抽出されているわけではないが、抽出物の大部分を脂肪が占めると思われることから、簡単のために残留物重量を脂肪量とした。

9. GC/MS測定条件

GCカラム：J&W Scientific社製のキャピラリーカラムDB-5MS（内径0.25 mm，長さ30 m，膜厚0.25 µm），ガードカラム：Agilent Technologies社製の不活性化キャピラリーカラム（内径0.25 mm，長さ 2.0 m），カラムオープン温度：50°C(1 min)→25°C/min→125°C→10°C/min→300°C(8.5 min)，注入口温度：250°C，トランスファーライン温度：300°C，キャリアーガス：ヘリウム(1 mL/min)，注入量：2 mL，注入方法：パルスドスプリットレス（注入時圧力40 psi），イオン化電圧：70 eV (EIモード)，測定方法：SIM(selected ion monitoring)及びSCAN（スキャン範囲50～550 amu，スキャンスピード1.5 scans/sec），EM電圧：SIM測定では2800V，SCAN測定ではオートチューニングでの設定値を用いた。

10. 定量及び確認

定量はSIM測定により得られたピーク面積を用いて絶対検量線法で行った。検量線

用標準溶液は、アセトンで希釈したものを使用した。確認は、SCAN測定ではマススペクトルを、SIM測定ではフラグメントイオンの相対強度比を標準品と比較して行った。

B-2. 有機溶媒抽出法

1. 試験溶液の調製法

1-1. 乳製品（牛乳，ヨーグルト）

試料20 gにアセトニトリル60 mLを加えて、3分間ホモジナイズした後、遠心分離した。上清をODSカートリッジカラム(1 g)に通した後、食塩飽和2 mol/Lリン酸緩衝液(pH 7)10 mL及び食塩10 gを加えて3分間振とうし、塩析によりアセトニトリル層を水層から分離した。アセトニトリル層45 mLを分取し、内部標準物質としてトリフェニルリン酸のヘキサン-アセトン(4:1)溶液(5 µg/mL) 0.15 mLを添加した。

無水硫酸ナトリウムで脱水後、濃縮装置で0.5 mLまで濃縮し、さらに窒素気流下で乾固直前まで濃縮した。食塩が析出してくるため、ヘキサン-アセトン(1:1)混液で3 mLとした後、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2 mLをPSAカートリッジカラム(500 mg)に負荷し、ヘキサン-アセトン(1:1)混液3 mLで3回溶出した。負荷液、溶出液のすべてを合わせて乾固直前まで濃縮し、ヘキサン-アセトン(4:1)混液で2 mLとし、試験溶液とした。

1-2. 魚介類（エビ，タイ）及び鯨肉

試料25 gにアセトニトリル60 mLを加えて、3分間ホモジナイズした後、ろ紙(5A)でろ過した。ろ液をODSカートリッジカラム(1 g)に通した後、食塩飽和2 mol/Lリン酸緩衝液(pH 7) 10 mL及び食塩7 gを加えて

3分間振とうし、塩析によりアセトニトリル層を水層から分離した。アセトニトリル層36 mLを分取し、内部標準物質としてトリフェニルリン酸のヘキサン-アセトン(4:1)溶液(5 µg/mL) 0.15 mLを添加した。以後、乳製品と同様に操作して、試験溶液を調製した。

2. GC/MS測定条件

装置：Hewlett Packard社製ガスクロマトグラフHP5890シリーズII型及び質量分析計HP5972型

カラム：J&W Scientific社製のキャピラリーカラムDB-5MS (内径0.25 mm, 長さ30 m, 膜厚0.10 µm)

(1)SCANモード分析用（全農薬対象）

カラムオープン温度：80°C(3 min)→30°C/min→170°C(4 min) →10°C/min→270°C(15 min)

注入口温度：250°C, インターフェイス温度：280°C, イオン化電圧：70 eV

キャリアガス圧力プログラム：30 psi(1 min) →80 psi/min→8 psi(0.2 min) (初期流量4 mL/minで1分間保持後急速に低下させ、1.5分後より0.9 mL/minの定流量とした。)

注入量：4 µL (スプリットレス注入法), パージオフ時間：1 min

(2)SIMモード分析用（低感度のオキシムカーバメイト, ピレスロイド系農薬等を対象）

カラムオープン温度：50°C(2 min) →30°C/min→170°C(4 min) →10°C/min→270°C(15 min)

注入口温度：250°C, インターフェイス温度：280°C, イオン化電圧：70 eV

キャリアガス圧力プログラム：30 psi(1 min) →80 psi/min→7 psi(0.2 min) (初期流量4 mL/minで1分間保持後急速に低下させ、

1.5分後より0.9 mL/minの定流量とした。) 注入量: 4 μ L (スプリットレス注入法), パージオフ時間: 1 min

C. 研究結果及び考察

1. 分析適用食品の拡大

SFE法については, 適用食品を拡大するために, 平成13年度に開発した肉類の方法を用いて, レバー及び魚(筋肉)で添加回収実験を行った。その結果, 魚(筋肉)では良好な結果が得られたが, レバーではGC/MS測定を妨害する夾雑物ピークが多く, 測定が困難な農薬が多く見られた。これは, レバーにはGC/MS測定の妨害となる脂肪酸及びそのエステル類が筋肉より多く存在するためと思われた。そのため, 新たにレバー試料に対するSFE法を検討した。

2. レバーに対するSFE法の検討

肉類のSFE法の検討から, 検討する因子として①密度, ②抽出温度, ③抽出時間, ④モディファイヤー (MeOH) 量, ⑤試料量, ⑥吸着剤 (DEA) 量を選択し, これらの因子について最適な条件を求めた。検討は, CO₂密度: 0.6~0.87g/mL, 抽出温度: 40~93°C, 動的抽出時間: 10~60分, MeOH添加量: 0.2~1 mL, 試料量: 0.5~1 g, DEA量: 0.5~3 gの範囲で行った。なお, 肉類の検討で回収率にあまり影響を与えなかったCO₂流速及び平衡化時間は肉類と同じ条件を使用した。10%含水シリカゲルについても, 肉類の検討から, 脂肪酸類の除去効果が少なかったことから, 同様に同じ条件を用いることとした。SFE抽出液の脂肪量ができるだけ少なくかつ高回収率が得られる条件を求め, 最終的にB-1. 超臨界流体抽出法の4. SFE条件及び5. 試験溶液の調製の項のレバーの方法に記載した条件が得ら

れた。今回開発したレバーに対する方法は魚の内臓へも適用可能であった。

3. 回収率

SFE法による添加回収実験を肉類及び魚筋肉は肉類の方法を, レバー及び魚内臓はレバーの方法を用いて行った。その結果を表2に示した。SFE法で得られた回収率の相対標準偏差(RSD)は, 肉類の方法もレバーの方法もいずれも5%前後であり, 良好な分析精度が得られた。また, キャプタン, β -エンドスルファン, カルバリル, カルボフラン, プロポキスル, トリアジメホン, トリアジメノール, トリフルミゾール及びメトプレンは, 試料によっては妨害ピークのため定量が困難だった。特に, キャプタン, カルバリル, トリアジメノール及びメトプレンは, いずれの試料でも妨害を受けた。これらの農薬は, レバーのトリアジメノール及びメトプレンを除きシリカゲルカートリッジカラムを用いた追加クリーンアップで定量が可能であった。

表3には, いずれかの試料で低回収率となった農薬について有機溶媒抽出法の結果と合わせて示した。検討した農薬のうち水溶解度が200 g/Lを越える極性の高い農薬にはメタミドホス, オキサミル, アセフェート及びバミドチオンがあったが, これらのうちアセフェートは有機溶媒抽出法, SFE法ともほとんど回収されなかった。他の3農薬については, SFE法では回収されなかったが, 有機溶媒抽出法では, くじらのバミドチオンを除き50%以上回収され, 有機溶媒抽出法は高極性の農薬に対しても適用可能であった。これに対してSFE法は, 水溶解度が数十g/Lを越えるような農薬に対しては, 回収率が低くなった。また, 抽

出操作中やGC測定中に分解するカプタホル、キャプタン及びクロロタロニルについては、いずれの分析法でも低回収率となった。ジコホールも分解することが知られている農薬であるが、クロマトグラム上では完全に分解してジクロロベンゾフェノンとなっていたため、これを測定することで定量することが可能であった。表3には、回収率が50%未満となった農薬を網掛けで示したが、これらの農薬に対しては分析法は適用困難と思われる。

表4には回収率毎の農薬数を有機溶媒抽出法の結果と合わせて示した。検討した農薬のうち7割以上は回収率が70~120%の範囲にあり良好な結果が得られた。回収率が50~70%とやや低くなった農薬や120%を越えた農薬も見られたがこれらの農薬については、スクリーニング分析は可能と思われた。そのため実態調査では、回収率が50%未満となった農薬以外を分析対象農薬とした。その結果、試料の種類にもよるが、SFE法では検討した160農薬のうち132~137農薬が、有機溶媒抽出法では251農薬のうち225~248農薬が分析対象となった。

4. 実態調査

開発したSFE法及び有機溶媒抽出法を用いて、市販食品について汚染調査を行った。有機溶媒抽出法の検出限界(LOD)及び定量限界(LOQ)は、それぞれ概ね1 ppb及び10 ppbであった。SFE法のLOD及びLOQは、有機溶媒抽出法の概ね1/2であった。

4-1. 有機溶媒抽出法

乳製品については、牛乳及びヨーグルト各10検体ずつを分析したが、農薬の残留は認められなかった。魚介類については、えび、たい及びすずきを、水棲哺乳類として

くじらについて分析した(表5)。輸入えび15検体中、8検体からエトキシキンが検出された。エトキシキンは酸化防止剤として、動物の飼料への添加が認められている国もある。したがって、今回、輸入えびから検出されたエトキシキンは飼料由来のものと予想される。たい及びすずきは、1検体のみ分析であるが、DDT類及びクロルデン類の痕跡量が検出された。また、くじらでは5検体中、1検体にp,p'-DDEの痕跡量が検出された。魚類及びくじらから検出された微量のDDT類やクロルデン類は、生物濃縮により蓄積されたものと考えられるが、内分泌かく乱化学物質の疑いがあるものとしてリストされており、継続的な調査が必要と思われる。

4-2. SFE法

SFE法では、肉類17検体(豚肉7検体、牛肉5検体、鶏肉5検体)、動物内臓10検体(豚レバー2検体、牛レバー2検体、鶏レバー3検体、豚及び牛の内臓3検体)、魚(筋肉)15検体及び魚(内臓)4検体について分析した。

肉類では豚肉、鶏肉のそれぞれ1検体で不検出であった以外は、いずれの検体からもDDT類が痕跡量~2 ppb検出された。DDT類以外では、牛肉からシラフルオフェン及びヘキサクロロベンゼン(HCB)が検出された。肉類中の残留農薬は、シラフルオフェン及びHCBが検出された牛肉2検体以外は、すべてDDT類であり、複数農薬の残留は認められなかった。動物内臓では、豚レバー及び鶏レバーのそれぞれ1検体で不検出となった以外は、いずれの検体からもDDT類が痕跡量~2 ppb検出された。動物内臓では、DDT類以外の農薬は検出されなかった。

魚（筋肉）では、調査した全ての検体からDDT類が痕跡量～33 ppb検出されたほか、15検体中11検体からHCBが痕跡量～10 ppb検出された。このほかの農薬では、ディルドリンが3検体から、 α -BHCが2検体から、ヘプタクロルエポキシドが1検体から検出された。アラスカ産のカラスカレイ1検体からは5種類の農薬が検出されたが、他の魚（筋肉）の多くでは、DDT類単独かDDT類とHCBとの組合せで検出された。魚（内臓）は、4検体のみの分析であるが、全ての検体からDDT類及びHCBが、それぞれ痕跡量～16 ppb及び痕跡量検出された。このほかの農薬では、 α -BHCがサンマ1検体から検出されたが、この検体では筋肉からも α -BHCが検出された。

今回調査した動物性食品から検出された農薬は、DDT類やHCBなどの有機塩素系農薬がほとんどであり、野菜・果実で見られたような極性の高い農薬の残留は認められなかった。また、野菜・果実では、1つの検体から多数の農薬が検出されることがあるが、動物性食品では多数検出例はほとんど見られなかった。

D. 結論

1. 平成14年度はSFE法の適用食品の拡大として、平成13年度に開発した肉類のSFE法を魚（筋肉）及びレバーへの適用を試みたところ、魚（筋肉）では良好な結果が得られたが、レバーでは夾雑物が多くGC/MS測定困難であった。そのため、新たにレバーに対するSFE分析法を開発した。本法は、魚（内臓）へも適用可能であった。

2. 有機溶媒抽出法及びSFE法を用いて、市販動物性食品について汚染調査を行った。

3. 有機溶媒抽出法では、輸入えび15検体

中8検体から飼料由来のものと思われるエトキシキン（酸化防止剤）が検出された。また、たい及びすずきからDDT類及びクロルデン類の痕跡量が検出されたほか、くじら5検体中1検体からもDDT類が痕跡量が検出された。

4. SFE法では、肉類17検体、内臓10検体、魚（筋肉）15検体及び魚（内臓）4検体について分析したところ、ほとんどの検体からDDT類が痕跡量～33 ppb検出された。このほか、一部の検体からHCB、シラフルオフェン、ディルドリン、 α -BHC及びヘプタクロルエポキシドが検出された。

表1 検討農薬

表1 検討農薬（続き）

表2 SFE法による農薬の回収率（続き）

表3 低回収率農薬

表4 分析対象農薬数

表5 実態調査結果（有機溶媒抽出法）

表6 実態調査結果（SFE法）

表6 実態調査結果（SFE法）（続き）

表6 実態調査結果（SFE法）（続き）

図1 有機溶媒抽出法及びSFE法の概略。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 検討農薬

(1) Organochlorine pesticide:	(2) Pyrethroid pesticides	(3) Carbamate pesticides	(4) Other pesticides
1 Aldrin	1 Acrinathrin	1 Aldicarb	1 Benfuresate
2 alpha-BHC	2 Allethrin	2 Bendiocarb	2 Biphenyl
3 beta-BHC	3 Bifenthrin	3 Butylate	3 Bromopropylate
4 gamma-BHC	4 Bioresmethrin	4 Carbaryl	4 Cinmethylin
5 delta-BHC	5 Cyfluthrin	5 Carbofuran	5 Dimethipin
6 Captafol	6 Cyhalothrin	6 Chlorpropham	6 Isoprothiolane
7 Captan	7 Cypermethrin	7 Diethofencarb	7 Methoprene
8 Captan & Captafol d	8 Deltamethrin	8 EPTC	8 o-Phenylphenol
9 cis-Chlordane	9 Tralomethrin	9 Esprocarb	9 Phenothiol
10 trans-Chlordane	10 Ethofenprox	10 Ethiofencarb	10 Piperonyl butoxide
11 Chlorobenzilate	11 Fenpropathrin	11 Fenobucarb	11 Propargite
12 Chlorothalonil	12 Fenvalerate	12 Isoprocarb	
13 Chlorthal-dimethyl	13 Flucythrinate	13 Methiocarb	
14 p,p'-DDD	14 Fluvalinate	14 Methomyl	
15 o,p'-DDT	15 Halfenprox	15 Metolcarb	
16 p,p'-DDE	16 Permethrin	16 Oxamyl	
17 p,p'-DDT	17 Phenothrin	17 Pirimicarb	
18 Dicofol	18 Pyrethrins	18 Propamocarb	
19 Dicofol d	19 Silafluofen	19 Propoxur	
20 Dieldrin	20 Tefluthrin	20 Terbutcarb	
21 alpha-Endosulfan	21 Tetramethrin	21 Thiobencarb	
22 beta-Endosulfan		22 XMC	
23 Endosulfan sulfate		23 Xylcarb	
24 Endrin			
25 Folpet			
26 Folpet d			
27 Fthalide			
28 Heptachlor			
29 Heptachlorepoxyde			
30 Hexachlorobenzene			
31 Indanofan			
32 Methoxychlor			
33 Mirex			
34 cis-Nonachlor			
35 trans-Nonachlor			
36 Oxychlordane			
37 Pentachlorophenol			
38 Quintozene			

下線: SFE法

イタリック体: SFE法のみ

d: 分解物

表 1 検討農薬(続き)

(5)Organophosphorus pesticides			(6)Organonitrogen pesticides				
1	<u>Acephate</u>	57	Phoxim	1	<u>Acetamiprid</u>	57	<u>Lenacil</u>
2	<u>Azinphos-ethyl</u>	58	<u>Pirimiphos-methyl</u>	2	Acibenzolar-S-methyl	58	<u>Mefenacet</u>
3	<u>Azinphos-methyl</u>	59	Profenofos	3	Alachlor	59	Mepanipyrim
4	<u>Bromophos-ethyl</u>	60	<u>Prothiofos</u>	4	<u>Amtraz</u>	60	Mepanipyrim M
5	<u>Butamifos</u>	61	Prothiofos oxon	5	Atrazine	61	<u>Mepronil</u>
6	<u>Cadusafos</u>	62	<u>Pyraclafos</u>	6	Azoxystrobin	62	<u>Metaxyl</u>
7	Carbophenothion	63	<u>Quinalphos</u>	7	<u>Benalaxyl</u>	63	Methabenzthiazuron
8	<u>(E)-Chlorfenvinphos</u>	64	<u>Terbufos</u>	8	Bifenox	64	<u>Metolachlor</u>
9	<u>(Z)-Chlorfenvinphos</u>	65	Tetrachlorvinphos	9	<u>Bitertanol</u>	65	<u>Metribuzin</u>
10	<u>Chlorpyrifos</u>	66	<u>Thiometon</u>	10	Bromacil	66	<u>Myclobutanil</u>
11	<u>Chlorpyrifos-methyl</u>	67	<u>Tolclofos-methyl</u>	11	Buprofezin	67	Nitrofen
12	Cyanofenphos	68	Triazophos	12	Butachlor	68	<u>Paclobutrazol</u>
13	<u>Cyanophos</u>	69	<u>Vamidothion</u>	13	Cafenstrole	69	Penconazole
14	Demeton-S-methyl			14	Carpropamid	70	Pencycuron
15	Demeton-S-methyl sulfone			15	<u>Chinomethionat</u>	71	<u>Pendimethalin</u>
16	<u>Diazinon</u>			16	Chlormethoxyfen	72	Pentoxazone
17	Diazinon oxon			17	Chlorfenapyr	73	<u>Pretilachlor</u>
18	<u>Dichlorvos</u>			18	Chlornitrofen	74	Prochloraz
19	Naled			19	Chlorprofam	75	<u>Procymidone</u>
20	<u>Dimethoate</u>			20	Clethodim	76	<u>Propanil</u>
21	<u>Dimethylvinphos</u>			21	Clofentezine	77	<u>Propiconazole</u>
22	<u>Dioxabenzofos</u>			22	Cyanazine	78	Propyzamide
23	<u>Disulfoton</u>			23	Cycloxydim	79	Pyraflufen ethyl
24	<u>Edifenphos</u>			24	Cyhalopbuthyl	80	Pyrazoxyfen
25	<u>EPN</u>			25	<u>Cyproconazole</u>	81	Pyributicarb
26	EPN oxon			26	Cyprodinil	82	<u>Pyridaben</u>
27	<u>Ethion</u>			27	<u>Dichlofuanid</u>	83	<u>(E)-Pyrifenox</u>
28	<u>Ethoprophos</u>			28	Dichlofuanid d	84	<u>(Z)-Pyrifenox</u>
29	<u>Etrimfos</u>			29	<u>Dicloran</u>	85	Pyrimethanil
30	<u>Fenitrothion</u>			30	Diethyltolamide	86	<u>Pyrimidifen</u>
31	Fenitrothion oxon			31	<u>Difenoconazole</u>	87	Pyriminobacmethyl
32	<u>Fensulfothion</u>			32	Diflufenican	88	<u>Pyriproxyfen</u>
33	<u>Fenthion</u>			33	Dimethenamid	89	Quizalofopethyl
34	Fonofos			34	Dimethomorph	90	Simazine
35	<u>Fosthiazate</u>			35	Diphenamid	91	Simetryn
36	Iprobenfos			36	<u>Diphenylamine</u>	92	Swep
37	<u>Isofenphos</u>			37	Ethoxyquin	93	<u>Tebuconazole</u>
38	Isofenphos oxon			38	Ethychlozate	94	Tebufenozide
39	<u>Isoxathion</u>			39	Etobenzanide	95	<u>Tebufenpyrad</u>
40	<u>Isoxathion oxon</u>			40	Etoxazole	96	Terbacil
41	<u>Malathion</u>			41	<u>Fenarimol</u>	97	Tetraconazole
42	<u>Malathion oxon</u>			42	Fenoxapropethyl	98	<u>Thenylchlor</u>
43	Methacrifos			43	Fipronil	99	<u>Thiabendazole</u>
44	<u>Methamidophos</u>			44	Fludioxonil	100	Thifluzamide
45	<u>Methidathion</u>			45	<u>Flusilazole</u>	101	Tolylfuanid
46	Monocrotophos			46	<u>Flutolanil</u>	102	Tolylfuanid d
47	Omethoate			47	Furametpyr	103	<u>Triadimefon</u>
48	<u>Parathion</u>			48	Furametpyr M	104	<u>Triadimenol</u>
49	Parathion oxon			49	Hexaconazole	105	<u>Tricyclazole</u>
50	<u>Parathion-methyl</u>			50	<u>Imazalil</u>	106	Trichlamide
51	Parathion-methyl oxon			51	Imibenconazol M1 ¹⁾	107	<u>Triflumizole</u>
52	<u>Phenthoate</u>			52	Imibenconazol M2 ²⁾	108	Triflumizole M
53	Phorate			53	<u>Imibenconazole</u>	109	<u>Trifluralin</u>
54	<u>Phosalone</u>			54	<u>Iprodione</u>	110	Uniconazol P
55	<u>Phosmet</u>			55	<u>Iprodione M</u>	111	<u>Vinclozolin</u>
56	Phosphamidon			56	Kresoximmethyl		

1) Imibenconazole M1: 2,4-dichloroaniline.

2) Imibenconazole M2: imibenconazole des benzyl type.

下線: SFE法

イタリック体: SFE法のみ

d: 分解物

M: 代謝物

表2 SFE 法による農薬の回収率

Pesticides	Family	Recovery (% , n=3)							
		Meat		Liver		Fish (muscle)		Fish (viscera)	
		Mean	(RSD)	Mean	(RSD)	Mean	(RSD)	Mean	(RSD)
Aldrin	OC	84	(3)	109	(3)	82	(2)	73	(4)
alpha-BHC	OC	100	(3)	106	(4)	88	(2)	83	(5)
beta-BHC	OC	99	(4)	107	(2)	104	(2)	88	(2)
gamma-BHC	OC	92	(4)	108	(4)	91	(0.4)	82	(3)
delta-BHC	OC	81	(7)	101	(4)	95	(2)	85	(6)
Captafol	OC	ND		ND		ND		24	(25)*
Captan	OC	ND *		ND *		ND *		— *	
Chlorobenzilate	OC	87	(2)	109	(3)	93	(1)	88	(1)
Chlorothalonil	OC	ND		ND *		ND		ND	
Chlorthal-dimethyl	OC	80	(4)	105	(3)	93	(3)	80	(5)
Dicofol-d	OC	106	(2)	107	(2)	324	(2)	102	(7)
<i>p,p'</i> -DDD + <i>o,p'</i> -DDT	OC	78	(1)	103	(4)	94	(3)	93	(3)
<i>p,p'</i> -DDE	OC	81	(2)	100	(3)	88	(3)	85	(3)
<i>p,p'</i> -DDT	OC	82	(6)	94	(6)	90	(2)	101	(5)
Dieldrin	OC	86	(6)	101	(4)	94	(2)	83	(3)
Endosulfan sulfate	OC	80	(6)	104	(3)	95	(2)	100	(2)
alpha-Endosulfan	OC	84	(6)	102	(3)	91	(2)	95	(5)
beta-Endosulfan	OC	82	(0.3)	87	(3)*	94	(2)	99	(4)
Endrin	OC	87	(7)	98	(3)	94	(4)	88	(5)
Heptachlor	OC	93	(5)	108	(3)	95	(2)	88	(4)
Heptachlor epoxide	OC	87	(5)	105	(4)	93	(0.3)	81	(3)
Hexachlorobenzene	OC	100	(4)	107	(3)	95	(2)	81	(4)
Methoxychlor	OC	79	(5)	102	(4)	87	(1)	115	(2)
Pentachlorophenol	OC	ND		ND		ND		7	(19)
Quintozene	OC	101	(4)	115	(3)	92	(2)	82	(4)
Acrinathrin	PY	78	(4)	101	(1)	83	(3)	112	(1)
Bifenthrin	PY	84	(7)	109	(2)	89	(4)	100	(3)
Cyfluthrin	PY	110	(4)	106	(4)	98	(4)	114	(3)
Cyhalothrin	PY	78	(3)	105	(3)	86	(3)	116	(3)
Cypermethrin	PY	105	(6)	101	(1)	98	(2)	113	(2)
Deltamethrin	PY	111	(3)	114	(4)	94	(4)	84	(5)
Ethofenprox	PY	94	(5)	93	(8)	90	(3)	106	(1)
Fenpropathrin	PY	80	(5)	96	(4)	92	(5)	114	(1)
Fenvalerate	PY	109	(4)	90	(4)	103	(4)	102	(2)
Flucythrinate	PY	108	(3)	113	(3)	97	(1)	107	(1)
Fluvalinate	PY	102	(4)	107	(5)	84	(6)	89	(2)
Halfenprox	PY	104	(5)	119	(3)	86	(4)	115	(1)
Permethrin	PY	90	(5)	108	(3)	91	(4)	119	(1)
Silaflofen	PY	112	(4)	105	(3)	89	(3)	106	(2)
Tefluthrin	PY	91	(6)	107	(4)	89	(2)	84	(5)
Aldicarb	CA	109	(4)	252	(14)	106	(3)	85	(4)
Bendiocarb	CA	91	(5)	81	(5)	88	(3)	93	(5)
Butylate	CA	116	(3)	108	(3)	95	(1)	79	(1)
Carbaryl	CA	104	(1)*	41	(18)*	101	(4)*	40	(2)*
Carbofuran	CA	98	(4)	89	(4)*	100	(2)	86	(1)
Chlorpropham	CA	103	(5)	112	(4)	115	(3)	94	(4)
Diethofencarb	CA	93	(2)	90	(3)	74	(2)	75	(4)
EPTC	CA	120	(4)	125	(1)	103	(4)	84	(9)
Esprocarb	CA	83	(8)	105	(3)	96	(1)	79	(5)
Ethiofencarb	CA	74	(15)	99	(3)	19	(19)	13	(25)
Fenobucarb	CA	83	(1)	102	(5)	93	(1)	80	(6)
Isoprocarb	CA	88	(6)	100	(2)	96	(4)	86	(5)
Methiocarb	CA	83	(6)	85	(5)	86	(3)	65	(5)
Oxamyl	CA	ND		ND *		ND		ND	
Pirimicarb	CA	90	(5)	104	(5)	91	(2)	81	(5)
Propamocarb	CA	ND		ND		ND		ND	
Propoxur	CA	103	(3)*	104	(2)	97	(3)	86	(6)
Thiobencarb	CA	89	(2)	106	(3)	96	(2)	82	(5)
Acephate	OP	ND		ND		ND		ND	
Azinphos-ethyl	OP	103	(3)	118	(2)	87	(7)	137	(1)
Azinphos-methyl	OP	184	(2)	277	(3)	87	(4)	149	(2)

表2 SFE 法による農薬の回収率(続き)

Pesticides	Family	Recovery (% , n=3)							
		Meat		Liver		Fish (muscle)		Fish (viscera)	
		Mean	(RSD)	Mean	(RSD)	Mean	(RSD)	Mean	(RSD)
Bromophos-ethyl	OP	81	(4)	104	(6)	95	(2)	85	(3)
Butamifos	OP	82	(6)	107	(3)	93	(4)	86	(7)
Cadusafos	OP	92	(5)	106	(3)	101	(1)	102	(4)
(E)-Chlorfenvinphos	OP	79	(2)	85	(3)	90	(2)	82	(4)
(Z)-Chlorfenvinphos	OP	79	(3)	91	(1)	92	(1)	82	(4)
Chlorpyrifos	OP	92	(7)	109	(4)	99	(1)	79	(5)
Chlorpyrifos-methyl	OP	83	(6)	103	(2)	89	(3)	81	(5)
Cyanophos	OP	90	(6)	106	(5)	94	(2)	84	(2)
Diazinon	OP	95	(6)	109	(4)	91	(2)	83	(4)
Dichlorvos	OP	61	(10)	3	(20)	32	(9)	55	(0.4)
Dimethoate	OP	ND		ND		33	(22)	ND	
(Z)-Dimethylvinphos	OP	86	(4)	88	(3)	96	(2)	83	(5)
Dioxabenzofos	OP	95	(4)	112	(6)	104	(1)	85	(3)
Disulfoton	OP	85	(6)	118	(5)	40	(11)	37	(5)
Edifenphos	OP	81	(7)	21	(12)	79	(3)	100	(3)
EPN	OP	87	(5)	115	(5)	87	(2)	118	(1)
Ethion	OP	85	(6)	111	(6)	95	(3)	92	(4)
Ethoprophos	OP	104	(5)	92	(2)	97	(1)	88	(4)
Etrimfos	OP	98	(5)	110	(4)	95	(2)	83	(4)
Fenitrothion	OP	88	(8)	117	(3)	99	(1)	87	(5)
Fensulfotion	OP	44	(15)	111	(2)	68	(13)	67	(0.02)
Fenthion	OP	77	(3)	108	(4)	53	(6)	27	(5)
Fosthiazate	OP	104	(0.3)	117	(2)	82	(7)	87	(1)
Isofenphos	OP	84	(6)	93	(1)	87	(2)	80	(1)
Isofenphos oxon	OP	110	(3)	83	(4)	78	(10)	83	(6)
Isoxathion	OP	92	(4)	116	(4)	96	(2)	100	(3)
Malaaxon	OP	87	(7)	2	(41)	64	(8)	80	(4)
Malathion	OP	79	(9)	7	(21)	91	(1)	76	(3)
Methamidophos	OP	ND		ND		ND		ND	
Methidathion	OP	82	(9)	116	(3)	92	(2)	87	(3)
Parathion	OP	98	(6)	125	(5)	94	(1)	82	(4)
Parathion-methyl	OP	86	(2)	128	(3)	96	(2)	83	(2)
Phenthoate	OP	79	(5)	50	(7)	92	(1)	81	(3)
Phosalone	OP	94	(5)	111	(4)	94	(4)	119	(1)
Phosmet	OP	87	(7)	130	(7)	64	(6)	117	(0.2)
Pirimiphos-methyl	OP	87	(7)	109	(6)	99	(0.3)	79	(3)
Prothiofos	OP	77	(4)	104	(3)	90	(3)	85	(4)
Pyraclifos	OP	103	(2)	117	(5)	87	(5)	126	(7)
Quinalphos	OP	85	(7)	105	(3)	105	(4)	99	(5)
Terbufos	OP	98	(4)	113	(4)	89	(5)	78	(1)
Thiometon	OP	85	(6)	ND *		40	(13)	66	(25)
Tolclofos-methyl	OP	84	(3)	107	(5)	98	(1)	77	(2)
Vamidothion	OP	ND		ND		ND		ND	
Acetamiprid	ON	ND		ND		ND		ND	
Ami traz	ON	6	(14)	ND		7	(58)	ND	
Benalaxyl	ON	80	(6)	107	(3)	96	(3)	98	(4)
Bitertanol	ON	6	(34)	71	(15)	47	(41)	52	(2)
Chinomethionat	ON	26	(5)	22	(40)	38	(5)	57	(3)
Cyproconazole	ON	61	(9)	89	(10)	69	(11)	58	(5)
Dichlofluanid	ON	ND		17	(6)	7	(3)	59	(3)
Dicloran	ON	92	(1)	100	(5)	109	(2)	94	(5)
Difenoconazole	ON	93	(7)	116	(2)	59	(9)	78	(6)
Diphenylamine	ON	9	(6)	100	(3)	15	(10)	5	(21)
Fenarimol	ON	105	(2)	97	(8)	72	(5)	79	(5)
Flusilazole	ON	102	(1)	105	(2)	88	(6)	90	(2)
Flutolanil	ON	106	(3)	57	(46)	91	(4)	24	(36)
Imazalil	ON	59	(8)	109	(1)	52	(14)	50	(4)
Imibenconazole	ON	50	(5)	115	(6)	81	(6)	37	(4)
Imibenconazole M1	ON	93	(4)	108	(5)	74	(2)	21	(2)
Imibenconazole M2	ON	1	(9)	ND		ND		ND	
Iprodione	ON	83	(7)	93	(6)	88	(5)	117	(6)

表 2 SFE 法による農薬の回収率(続き)

Pesticides	Family	Recovery (% , n=3)							
		Meat		Liver		Fish (muscle)		Fish (viscera)	
		Mean	(RSD)	Mean	(RSD)	Mean	(RSD)	Mean	(RSD)
Iprodione metabolite	ON	98	(6)	95	(7)	100	(4)	138	(1)
Lenacil	ON	ND		ND *		ND		ND	
Mefenacet	ON	111	(1)	102	(5)	91	(5)	116	(1)
Mepronil	ON	104	(1)	97	(1)	96	(3)	100	(4)
Metaxyl	ON	100	(7)	110	(1)	92	(6)	82	(3)
Metolachlor	ON	85	(6)	110	(2)	92	(2)	82	(1)
Metribuzin	ON	89	(3)	108	(3)	87	(3)	76	(0.4)
Myclobutanil	ON	75	(4)	103	(4)	61	(9)	94	(3)
Paclobutrazol	ON	145	(4)	114	(5)	90	(2)	88	(3)
Pendimethalin	ON	83	(4)	120	(3)	93	(2)	78	(3)
Pretilachlor	ON	75	(3)	102	(4)	97	(3)	82	(5)
Procymidone	ON	87	(5)	105	(3)	94	(3)	87	(5)
Propanil	ON	26	(8)	ND		23	(18)	ND	
Propiconazole	ON	102	(2)	105	(4)	92	(5)	110	(3)
Pyridaben	ON	95	(3)	109	(4)	87	(3)	118	(2)
(E)-Pyrifenox	ON	102	(2)	108	(1)	89	(4)	73	(2)
(Z)-Pyrifenox	ON	101	(3)	107	(2)	88	(3)	78	(2)
Pyrimidifen	ON	117	(1)	114	(2)	82	(4)	93	(1)
Pyriproxyfen	ON	83	(5)	106	(3)	92	(4)	120	(1)
Tebuconazole	ON	50	(10)	106	(8)	65	(9)	90	(2)
Tebuconazole	ON	82	(5)	108	(4)	90	(4)	117	(2)
Thenylchlor	ON	80	(7)	106	(5)	92	(3)	94	(3)
Thiabendazole	ON	ND		ND		ND		ND	
Triadimefon	ON	100	(3) *	92	(1) *	94	(2)	94	(2)
Triadimenol	ON	134	(7) *	— *		106	(10) *	142	(4) *
Tricyclazole	ON	ND		ND		ND		ND	
Triflumizole	ON	106	(3)	84	(7) *	82	(2)	76	(4)
Trifluralin	ON	104	(4)	130	(3)	97	(1)	83	(3)
Vinclozolin	ON	84	(4)	103	(3)	92	(2)	78	(5)
Benfuresate	OT	90	(7)	103	(5)	101	(2)	89	(2)
Bromopropylate	OT	87	(4)	111	(3)	96	(4)	120	(2)
Dimethipin	OT	105	(3)	100	(6)	86	(3)	81	(2)
Diphenyl	OT	112	(3)	127	(1)	103	(2)	78	(1)
Methoprene	OT	86	(3) *	— *		98	(2) *	101	(23) *
o-Phenylphenol	OT	33	(15)	87	(13)	33	(6)	2	(15)
Piperonyl butoxide	OT	76	(5)	112	(3)	88	(2)	87	(0.4)
Propargite	OT	93	(3)	144	(4)	95	(4)	116	(4)

Spiking level: 0.1 ppm for meat and fish (muscle). 0.2 ppm for liver and fish (viscera).

OC: organochlorine pesticides, PY: pyrethroid pesticides, CA: carbamate pesticides, OP: organophosphorus pesticides
ON: organonitrogen pesticides, OT: other pesticides.

* Results from silicagel clean-up

RSD: relative standard deviation.

ND: not detected.

—: interference.

表3 低回収率農薬

Pesticides	Family	Solvent extraction method					SFE method			
		Milk	Yogurt	Shrimp	Sea bream	Whale	Meat	Fish (muscle)	Liver	Fish (viscera)
Aldrin	OC	46	62	68	43	61	84	82	109	73
Captafol	OC	61	73	ND	ND	ND	ND	ND	ND	24
Captan	OC	51	71	28	13	23	ND	ND	ND	#
Chlorothalonil	OC	45	49	ND	ND	13	ND	ND	ND	ND
Folpet	OC	59	70	4	10	20	—	—	—	—
Hexachlorobenzene	OC	46	59	61	39	57	100	95	107	81
Mirex	OC	35	53	62	39	58	—	—	—	—
p,p'-DDE	OC	55	75	74	48	69	81	88	100	85
Pentachlorophenol	OC	—	—	—	—	—	ND	ND	ND	7
Carbaryl	CA	91	94	86	80	82	104	101	43	40
Ethiofenarb	CA	84	95	80	72	58	74	19	99	13
Oxamyl	CA	83	124	88	74	78	ND	ND	ND	ND
Propamocarb	CA	66	70	70	78	79	ND	ND	ND	ND
Acephate	OP	ND	ND	18	26	ND	ND	ND	ND	ND
Azinphos-methyl	OP	141	124	141	129	27	184	87	277	149
Demeton-S-methyl sulfone	OP	82	88	83	30	6	—	—	—	—
Dichlorvos	OP	58	60	73	80	58	61	32	3	55
Dimethoate	OP	87	100	80	16	16	ND	33	ND	ND
Dimethylvinphos	OP	93	100	84	36	30	86	96	88	83
Disulfoton	OP	—	—	—	—	—	85	40	118	37
Edifenphos	OP	87	92	90	88	55	81	79	21	100
Fenitrothion	OP	92	97	86	62	45	88	99	117	87
Fenitrothion oxon	OP	84	83	83	21	16	—	—	—	—
Fensulfothion	OP	89	98	98	94	105	44	68	111	67
Fenthion	OP	86	100	84	75	70	77	53	108	27
Isoxathion oxon	OP	58	75	68	60	23	—	—	—	—
Malaoxon	OP	93	95	80	23	22	87	64	2	80
Malathion	OP	80	89	89	61	43	79	91	7	76
Methamidophos	OP	77	85	51	68	95	ND	ND	ND	ND
Methidathion	OP	93	102	97	44	13	82	92	116	87
Monocrotophos	OP	95	81	79	46	11	—	—	—	—
Omethoate	OP	81	83	74	23	13	—	—	—	—
Parathion-Me	OP	87	81	86	59	41	86	96	128	83
Parathionmethyl oxon	OP	80	82	83	23	12	—	—	—	—
Phenthoate	OP	76	90	82	59	45	79	92	50	81
Phosmet	OP	112	104	112	94	31	87	64	130	117
Phosphamidon	OP	93	97	83	20	17	—	—	—	—
Tetrachlorvinphos	OP	89	92	81	38	8	—	—	—	—
Thiometon	OP	80	89	78	78	73	85	40	ND	66
Vamidothion	OP	71	81	83	64	33	ND	ND	ND	ND
Acetamiprid	ON	122	170	77	64	69	ND	ND	ND	ND
Amitraz	ON	—	—	—	—	—	5	7	ND	ND
Bitertanol	ON	150	124	115	136	125	6	47	71	52
Chinomethionat	ON	—	—	—	—	—	26	38	22	57
Dichlofluanid	ON	58	70	56	38	17	ND	7	17	59
Diphenylamine	ON	83	93	74	80	76	9	13	100	5
Ethoxyquin	ON	3	8	52	18	1	—	—	—	—
Flutolanil	ON	80	109	88	81	82	106	91	57	24
Imibenconazole	ON	114	129	99	116	97	50	81	115	37
Imibenconazole M1	ON	90	98	93	63	79	93	74	108	21
Imibenconazole M2	ON	89	85	96	93	67	1	ND	ND	ND
Lenacil	ON	113	112	100	105	101	ND	ND	ND	ND
Propanil	ON	100	97	80	88	69	26	23	ND	ND
Thiabendazole	ON	86	87	88	86	88	ND	ND	ND	ND
Tolylfluanid	ON	70	95	13	12	30	—	—	—	—
Tricyclazole	ON	—	—	—	—	—	ND	ND	ND	ND
Dimethipin	OT	77	82	80	63	48	105	86	100	81
o-Phenylphenol	OT	91	92	71	70	89	33	33	87	2

OC: organochlorine pesticides, PY: pyrethroid pesticides, CA: carbamate pesticides, OP: organophosphorus pesticides, ON: organonitrogen pesticides, OT: other pesticides.

ND: not detected.

—: not tested.

網掛け: <50%.

イタリック体: >120%.

#: interference.