

200501044A

厚生労働科学研究費補助金
食品の安心・安全確保推進研究事業

農薬等の一律基準と加工食品基準及び急性暴露評価に関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 国立医薬品食品衛生研究所食品部 米谷 民雄

平成18（2006）年4月

目 次

I. 総括研究報告書	
農薬等の一律基準と加工食品基準及び急性暴露評価に関する研究 ……………	1
米谷 民雄	
II. 分担研究報告書	
1. GC/MS による加工食品中の残留農薬分析法の開発 ……………	9
根本 了	
2. LC/MS による加工食品中の残留農薬分析法の開発 ……………	33
岡 尚男	
3. 残留農薬等の急性参照用量に関する調査研究 ……………	41
菅野 純	
4. 食物摂取量調査から見た残留農薬等の暴露評価の精密化手法の検討及び 残留農薬等の短期暴露評価法の検討 ……………	45
吉池 信男	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ……………	77
IV. 研究成果の刊行物・別刷 ……………	79

I. 総括研究報告書

農薬等の一律基準と加工食品基準及び急性暴露評価に関する研究

主任研究者 米谷 民雄

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

平成17年度総括研究報告書

農薬等の一律基準と加工食品基準及び急性暴露評価に関する研究

主任研究者 米谷民雄 国立医薬品食品衛生研究所 食品部長

研究要旨：一律基準に関する2つの分担課題は、予定通り昨年度の単年度で終了した。

①植物油中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法については、平成17年度は分析対象農薬を約60農薬から約180農薬（加工食品に基準値が設定されていない農薬を含む）に拡大するとともに、平成16年度に開発した方法の精製効果を向上させるための改良法について検討し、珪藻土カラムとC18カラムの連結カラムで脱脂後、シリカゲルカラム及びPSAカラムで精製しGC/MS測定する簡便で迅速な方法を開発した。また、開発した植物油の残留農薬分析法に対して、大量注入-GC/MS法を適用することにより、PSAカラム精製後の溶出液を濃縮せずにそのままGC/MS測定できるため、分析の迅速化及び簡便化を図ることができた。更に、製粉化穀類、果実果汁、乾燥果実及びトマト加工品中の残留農薬GC/MS一斉分析法について検討した。

②双方向向流クロマトグラフィーを用いた試料精製法と液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計(LC/MS/MS)を組み合わせて、食用油、穀物粉及び食パン中の有機リン系農薬、メタミドフォス、アセフェート、ジメトエートの迅速な分析法を開発した。回収率及び変動係数は良好であり、試料調製から分析結果を得るまでの所要時間は、食用油で約20分、穀物粉と食パンで約30分程度であった。

③FAO/WHO合同残留農薬専門家会議(JMPR)における急性参照用量(ARfD)設定のガイダンス(2002年)以後の改訂版(2004年)、2005年にJMPRのグループにより発表されたARfDに関する論文、EPAのARfDsに関するガイダンス等の情報を収集し、安全係数の設定の考え方及びヒトのデータの取り扱い等について整理を行った。

④食品摂取量調査からみた暴露評価の手法について、国民健康・栄養調査や関連の調査データの詳細な解析を通じて検討を行った。平成16年度には2年分のみが利用可能であった栄養調査データセットを3年分(188,640レコード)に拡大し、その分析を行い、今後の暴露評価に必要な個別食品の分布を求め、データベース化した。特に、作物残留量の個体間変動試験を実施している葉菜(ハクサイなど)については他の調査によって得られたデータベースも活用し、多食者の分布について詳細な検討を行った。また、これまでデータがほとんど無かったハーブ及びスパイスに関して、摂取量データの利用可能性の検討を行っ

た。さらに、JMPRにより急性参照用量が設定されているエンドスルファンについて、ハクサイと大根葉を用いて残留試験を行い、各 50 検体の残留濃度を分析した結果、それぞれ残留濃度の変動係数が 2.3 及び 1.3 と算出された。また、JMPR より推定された農作物から加工食品への加工係数のデータベースを作成した。

分担研究者（番号は以下の研究内容と対応している）

- ①根本 了（国立医薬品食品衛生研究所）
- ②岡 尚男（金城学院大学薬学部）
- ③菅野 純（国立医薬品食品衛生研究所安全生
物試験研究センター）
- ④吉池信男（（独）国立健康・栄養研究所）

研究協力者

- ②伊藤裕子（愛知県衛生研究所）
後藤智美（愛知県衛生研究所）
寺田久屋（名古屋市衛生研究所）
- ③高木篤也（国立医薬品食品衛生研究所安全生
物試験研究センター）
- ④山田友紀子（農林水産省消費・安全局）
小林秀誉（農林水産省消費・安全局）
石脇亜紗子（お茶の水女子大学大学院生活環
境研究センター）
由田克士（（独）国立健康・栄養研究所健康・
栄養調査研究部）
山本 茂（徳島大学大学院ヘルスバイオサイ
エンス研究部）

A. 研究目的

平成 15 年 5 月に改正食品衛生法が公布され、その目玉として、残留農薬等にポジティブリスト制度が導入されることになった。このポジティブリスト制度のもとでは、基準未設定の農薬等は、厚生労働大臣が定める一定基準を超えて食品に残留す

ることが禁止される。その設定にあたっては、農薬等の毒性に関するエンドポイントや分析法における定量（検出）限界を考慮する必要がある。そこで、それらに関する情報を収集し、一律基準設定の際の資料とすることを目的とする。

また、近年の輸入食品では加工食品が増加する傾向にあるが、今回のポジティブリスト制度では、加工食品も対象であるため、加工程度が低くかつ流通量が多い食品について、その分析法を開発することを企図した。

一方、残留農薬の暴露評価を行うにあたり、急性毒性評価手法を確立することが課題となっており、コーデックスにおいても議論されている。手法の確立にあたっては、国際的に提案されている手法を参考にしつつ、急性参照用量 (acute RfD) の設定、個別農作物についてのデータ収集、統計学的手法の検討などが必要である。そこで、それらについて情報を収集するとともに、特定の農作物については圃場での作物残留試験を実施することにした。

このように、一律基準を設定し、また、加工食品に対する分析法を確立することにより、厳格な輸入食品検査が実施可能となる。また、急性暴露評価手法を確立し、残留基準の設定に反映させることにより、食品の安全をより確実に確保することができるようになる。

なお、一律基準に関する2つの分担課題については、当初の予定通り、平成16年度の単年度で終了した。

B. 研究方法

①昨年度開発したGC/MS一斉分析法の適用対象農薬の拡大について検討するとともに、製粉化穀類、乾燥果実及び果実果汁などの加工食品に対する残留農薬分析法を検討した。

②液体クロマトグラフィー/質量分析法の分析条件を詳細に検討し、最も高感度で選択性の高い条件を選択した。また、食品からの夾雑物をできるだけ排除しかつ農薬の抽出効率が高い抽出を実現するために、双方向向流クロマトグラフィーの利用を検討した。

③ARfDsに関連する情報を収集・整理するため、FAO/WHO合同残留農薬専門家会議(JMPR)におけるARfDs設定のためのガイダンス(2004)、ならびにEPAにおけるARfDs設定のガイダンスを中心に情報を収集した。また、安全係数の考え方、ヒトのデータの取り扱い等の国際間の考え方の相違についても整理した。

④食品摂取量調査からみた暴露評価の手法について、国民健康・栄養調査や関連の調査データの詳細な解析を通じて検討を行った。栄養調査データセットは3年分(2001~2003年;188,640レコード)に拡大した。特に、作物残留量の個体間変動試験を実施している葉菜(ハクサイ)については、他の調査によって得られたデータベース(20~64歳;延べ7155名)を活用し、多食者の分布について詳細な検討を行った。なお、データの使用に際しては、事前

に厚生労働省の担当部局より、目的外使用の許可を得るとともに、個人情報の保護について最大限の倫理的な配慮を行った。

一方、葉菜(ハクサイ、大根葉)におけるエンドスルファンの作物残留試験を行い、変動係数を求めた。

C. 研究結果

①GC/MSによる加工食品中の残留農薬分析法の開発では、平成16年度は加工食品に暫定基準値が設定される農薬のうちGC測定可能な約60農薬を対象としたが、平成17年度は対象農薬を約180農薬(加工食品に暫定基準値が設定されていない農薬を含む)に拡大して、植物油(暫定基準値の設定品目数が最も多い加工食品)に対する残留農薬分析法について検討し、珪藻土カラムとC18カラムの連結カラムで脱脂後、シリカゲルカラム及びPSAカラムで精製しGC/MS測定する簡便で迅速な方法を開発した。

また、大量注入-GC/MS法について検討し、一般のスプリットレス法の注入量の数十倍となる40 μ Lを注入可能な方法を開発した。植物油の残留農薬分析法に大量注入法を適用することにより、PSAカラム精製後の溶出液を濃縮せずにそのままGC/MS測定することができ、分析の迅速化及び簡便化を図ることができた。さらに、農薬を試料からアセトニトリル抽出し、塩析及びトルエン添加-無水硫酸ナトリウム脱水により水を除いた後、非脂肪性食品についてはそのまま、脂肪性食品についてはC18カラムで精製後、いずれもENVI-Carb II/PSAカラムで精製する、製粉化穀類、乾燥果実及び果実果汁に対する残留農薬GC/MS一斉

分析法を開発した。

②LC/MS による加工食品中の残留農薬分析法を開発するために、双方向向流クロマトグラフィーを用いた試料精製法と液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計を組み合わせた。これにより、食用油、穀物粉及び食パン中の有機リン系農薬、メタミドフォス、アセフェート、ジメトエートの迅速な分析を行うことができた。大豆油、オリーブ油及びなたね油に 0.5 mg/kg 及び 0.1 mg/kg となるよう添加したとき、回収率は 85-105%、変動係数は 1.1-7.8% であり、小麦粉、ライ麦粉及び全粒小麦粉に 0.05 mg/kg 及び 0.01 mg/kg となるよう添加したとき、回収率は 78-113%、変動係数は 1.9-10.4% であった (n=5)。また、白食パン、ライ麦食パン、全粒食パンに 0.5 mg/kg 及び 0.05 mg/kg となるように添加したときは、回収率は 62-110%、変動係数は 0.9-8.4% であった (n=5)。本法では、試料調製から分析結果を得るまでの所要時間は、食用油で約 20 分、穀物粉と食パンでは約 30 分程度であった。

③残留農薬等の急性参照用量に関する調査研究では、残留農薬の急性毒性評価を NOAEL を指標として行う手法を確立する一貫として、残留農薬等の ARfD に関連する情報を収集・整理するため、平成 17 年度は JMPR における ARfD 設定のガイダンス (2002 年) 以後の改訂版 (2004 年)、2005 年に JMPR のグループにより発表された ARfD 設定のガイダンスに関する論文、および EPA の ARfDs に関するガイダンス等の情報を収集し、安全係数の設定の考え方及びヒトのデータの取り扱い等について整理した。

④食物摂取量調査から見た残留農薬等の暴露評価の精密化手法の検討及び残留農薬等の短期暴露評価法の検討では、葉菜類の短期暴露評価への活用を目的に、国民健康・栄養調査(2001~2003 年)の食品データを用いて、11 月のある 1 日における白菜の摂取分布を検討したところ、摂取者(23,101 人)における摂取量の 97.5 パーセンタイル値は 249g(20~64 歳)であった。また、季節的な変動を考慮するために 4 つの季節に調査を行った他の調査データについて、同様に 97.5 パーセンタイル値を求めると、秋 1 日が 291g であったのに対して、秋 3 日平均が 219g、冬 3 日平均が 109g、春 3 日平均が 79g、夏 3 日平均が 99g と大きな差が見られた。また、これらの摂取量データと分布型を掛け合わせシミュレーションを行うために、さらに、JMPR によって急性参照量が設定されているエンドスルファンについて、ハクサイと大根葉を用いて作物残留試験を行い、各 50 検体の残留濃度を分析した。その結果、それぞれ残留濃度の変動係数が 2.3 及び 1.3 と算出された。また、JMPR により推定された農作物から加工食品への加工係数のデータベースを作成した。

D. 考察

①開発した植物油、製粉化穀類、乾燥果実及び果実果汁に対する残留農薬 GC/MS 一斉分析法は、特殊な装置などを使用しないので、実際の行政検査の現場における残留農薬検査にそのまま活用することが可能である。特に、植物油の残留農薬分析法につ

いては、簡便な操作で短時間に分析できることから、検査業務の効率化が期待できる。また、植物油の残留農薬分析法で使用した珪藻土カラムを用いた脱脂方法は、GPC（ゲル浸透クロマトグラフィー）法などのような自動化は困難であるものの、特殊な装置は不要で、GPC 法よりも溶媒使用量が少ないといった利点があり、他の高脂肪含有食品の脱脂操作への応用が期待される。

②現在までに厚生労働省より通知されている分析法は一次農産物に対するものが主であり、複雑なマトリックスを含有する加工食品に適用できる分析法とは言い難い。しかし、今日流通している食品の多くは加工食品であり、食品衛生行政の現場では、簡便で信頼性が高く高感度な、加工食品中の残留農薬分析法の開発が必要とされてきた。そこで、平成 16 年度は LC/MS による加工食品中のカーバメート系農薬の、平成 17 年度は有機リン系農薬の分析法開発のための基礎的検討を行い、その有用性を実証した。本試験法をさらに多数の農薬に適用できれば、実際に行政の現場で加工食品中の残留農薬を検査できることになり、加工食品中の残留農薬に対する国民の不安を軽減することができ、国民の食の安全性の確保に貢献することができる。

③残留農薬等の ARfDs に関連する海外の情報を収集・整理するとともに、安全係数の考え方、ヒトのデータの取り扱い等の諸問題を整理したが、これらは将来的に我が国において残留農薬の短期暴露影響のリスクアセスメント手法を導入する際の検討資料として利用されることが期待される。

④本研究により得られた成果は、食品中の残量農薬等の急性及び慢性暴露影響を検

討するための基礎データとなる。特に今回作成した国民健康・栄養調査(2001~2003年)の摂取量データベースを基に、各食品について出来るだけ原材料に分解した2次データベースを作成することにより、食品中に残留する農薬や動物用医薬品の暴露量推定をより精密に行うことが可能となる。また、短期暴露評価については、わが国ではほとんど行われておらず、今回および来年度以降の試行により、評価手法を改良することができる。

E. 結 論

①珪藻土カラムと C18 カラムの連結カラムで脱脂後、シリカゲルカラム及び PSA カラムで精製し GC/MS 測定する簡便で迅速な植物油中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法を開発した。開発した分析法は、簡便な操作で短時間で分析できることから、検査業務の効率化・迅速化が期待できる。

植物油中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法では、大量注入-GC/MS 法を用いることにより、PSA カラム精製後の溶出液を濃縮せずにそのまま GC/MS 測定することができ、分析の迅速化及び簡便化を図ることができた。

植物油の残留農薬分析法で使用した珪藻土カラムを用いた脱脂方法は、GPC（ゲル浸透クロマトグラフィー）法などのような自動化は困難であるものの、特殊な装置は不要で、GPC 法よりも溶媒使用量が少ないといった利点があり、他の高脂肪含有食品の脱脂操作への応用が期待された。

製粉化穀類、果実果汁、乾燥果実及びトマト加工品中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法について検討し、農薬を試料からアセトニトリル抽出し、塩析により水層を除いた後、

非脂肪性食品についてはそのまま、脂肪性食品についてはC18カラムで精製後、トルエン添加-無水硫酸ナトリウム脱水により脱水後、ENVI-Carb II/PSAカラムで精製する方法を開発した。

開発した植物油、製粉化穀類、乾燥果実、果実果汁及びトマト加工品に対する残留農薬GC/MS一斉分析法は、市販のカートリッジカラムなどを用い、特殊な装置などは使用しないので、実際の行政検査等での残留農薬分析にそのまま活用が可能である。

② Dual CCC を用いた試料調製法とLC/MS/MSを組み合わせた方法により、加工食品中の有機リン系農薬、メタミドフォス、アセフェート、ジメトエートの分析法を開発した。Dual CCC を用いた試料調製法は、農薬と測定妨害物質が同じ出口から溶出することがなく、妨害物質の溶出時間を考慮する必要がないため、多数の検体を短時間で処理することが可能であった。また、安定同位元素標識体を内部標準に用いたLC/MS/MS分析法では、加工食品中の農薬を簡便に前処理するのみで高感度かつ高精度で分析することができた。これらの方法は、複雑なマトリックスを含有する加工食品を対象とした分析に非常に有効な手段であると考えられた。

③残留農薬等のARfDsに関連する情報を収集・整理するため、JMPRにおける「ARfDs設定のためのガイダンス」(2004)ならびにEPAのARfDsのガイダンスを中心に情報を収集した。ARfDsの安全係数についてはJMPRでは25のデフォルトの安全係数を提案しているが、EPAでは100であり、一致は見られなかった。また、ヒトの農薬の投与試験の取り扱いについても、JMPRとEPA

で相違が見られ、それらの取り扱いについては我が国においても慎重に判断していかなければならない問題であると結論づけられた。

④食品中に残留する農薬や動物用医薬品等の暴露評価をより科学的に行っていくための基礎とすべく、食品摂取量データベースの構築及び活用方法の検討を行った。今日的な課題である、急性暴露影響の評価を行うための基礎となる摂取量分布データや、国民健康・栄養調査を含めて、一般の食事調査においては十分な把握がなされにくいスパイスやハーブについては、摂取量データの利用可能性について検討を行った。

また、JMPRにより急性参照量が設定されているエンドスルファンについて、ハクサイと大根葉を用いて残留試験を行い、各50検体の残留濃度を分析した結果、それぞれ残留濃度の変動係数が2.3及び1.3と算出された。さらに、JMPRにより推定された農作物から加工食品への加工係数のデータベースを作成した。

来年度は、摂取量データと残留試験データ、及び既存資料から得られた加工係数等を組み合わせて、統計モデルを用いた暴露評価を行う予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 米谷民雄：食品中残留農薬等のポジティブリスト制導入と分析法の開発—厚生労働省・農林水産省・環境省による最近の

農薬規制の改正について― 食品衛生学
雑誌, 46(6), J327-J334 (2005)

2) 米谷民雄: 食品中残留農薬等のポジテ
ィブリスト制度施行に向けた試験法開発
にあたって 食品衛生研究, 56(4), 7-12
(2006)

2. 学会発表

1) 米谷民雄: 農薬等のポジティブリスト制と分
析法の検討 日本食品科学工学会第52回大
会、2005.8. (札幌)

2) 米谷民雄: 食品に残留する農薬等のポジ
ティブリスト制度の役割と進捗状況 日本分析
化学会第271回ガスクロマトグラフィー研
究会、2005.12. (東京)

3) 藤井紘子、齋藤京子、草間かおる、由
田克士、吉池信男: 複数日の食物摂取量調
査にみられる季節変動―食品群別摂取量
に着目して― 第64回日本公衆衛生学会、
2005.9. (札幌)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

Ⅱ. 分担研究報告書

1. GC/MS による加工食品中の残留農薬分析法の開発

分担研究者 根本 了

厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)
平成 17 年度分担研究報告書

農薬等の一律基準と加工食品基準及び急性暴露評価に関する研究
GC/MS による加工食品中の残留農薬分析法の開発

分担研究者 根本 了 国立医薬品食品衛生研究所 食品部主任研究官

研究要旨

植物油中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法については、平成 17 年度は分析対象農薬を約 60 農薬から約 180 農薬(加工食品に基準値が設定されていない農薬を含む)に拡大するとともに、平成 16 年度に開発した方法の精製効果を向上させるための改良法について検討し、珪藻土カラムと C18 カラムの連結カラムで脱脂後、シリカゲルカラム及び PSA カラムで精製し GC/MS 測定する簡便で迅速な方法を開発した。また、開発した植物油の残留農薬分析法に対して、大量注入-GC/MS 法を適用したところ、PSA カラム精製後の溶出液を濃縮せずにそのまま GC/MS 測定できるため、分析の迅速化及び簡便化を図ることができた。更に、製粉化穀類、果実果汁、乾燥果実及びトマト加工品中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法について検討し、農薬を試料からアセトニトリル抽出し、塩析により水層を除いた後、非脂肪性食品についてはそのまま、脂肪性食品については C18 カラムで精製後、トルエン添加-無水硫酸ナトリウム脱水により脱水後、ENVI-Carb II/PSA カラムで精製する方法を開発した。

A. 研究目的

平成 15 年 5 月に改正食品衛生法が公布され、農薬・動物薬等にポジティブリスト制度が導入されることになった。加工食品については、これまで残留基準が設定されていなかったが、今回のポジティブリスト制度の導入にあたっては、主に加工程度が低く、かつ流通量が多い加工食品について基準値が設定されることになった。これにともない、加工食品の基準値案が、第 1 次案(平成 15 年 10 月 28 日)、第 2 次案(平成 16 年 8 月 20 日)及び最終案(平成 17 年 6 月 3 日)¹⁾として厚生労働省より示された。表 1 には、最終案で示された内容を加工食品別に、また表 2 には農薬別にまとめて示した。

加工食品に対しては、これまで農薬の残留基準が設定されていなかったことから、その残留分析法も整備されていない。そこで、加工食品に対する残留農薬分析法を開発することにした。基準値が設定される加工食品としては、植物油、

小麦粉等の製粉化穀類、乾燥果実・野菜、果実果汁などがある。平成 16 年度は、これらの食品のうち基準値が設定される品目数が最も多い植物油を用いて、加工食品に暫定基準値が設定される農薬のうち GC 測定可能な約 60 農薬を対象として残留農薬 GC/MS 一斉分析法を検討した。平成 17 年度は、分析対象を約 180 農薬に拡大するとともに、精製効果を向上させるための改良法について検討した。また、効率化・迅速化を図るために、開発した植物油の残留農薬分析法への大量注入(LVI: large volume injection)-GC/MS 法の適用を試みた。更に、製粉化穀類、果実果汁、乾燥果実及びトマト加工品などの加工食品に対する残留農薬 GC/MS 一斉分析法の検討を行った。

B. 研究方法

1. 試料

試料はいずれも東京都内の小売店で購入し

た。

植物油：綿実油、オリーブ油（初搾）及びサラダ油（なたね油と大豆油の混合物）を重量比で等量ずつ混合したものを検討用試料とした。

小麦全粒粉：粒子が概ね $420\ \mu\text{m}$ の標準網ふるいを通る大きさであったことから、市販品をそのまま使用した。

トマト加工品：トマトペースト及びトマトピューレーを重量比で等量ずつ混合したものを検討用試料とした。

果実果汁：トマト果汁、りんご果汁、オレンジ果汁及びぶどう果汁を重量比で等量ずつ混合したものを検討用試料とした。

乾燥果実：干しぶどう及び乾燥プルーンを重量比で等量ずつ混合したものを検討用試料とした。試験溶液調製の際には、混合物に等量の水を添加してホモジナイズしたものを試料とした。

2. 試薬及び試液

試薬：有機溶媒、塩化ナトリウム及び無水硫酸ナトリウムは残留農薬試験用試薬（和光純薬工業株式会社または関東化学株式会社製）を使用した。リン酸水素二カリウム (K_2HPO_4)、リン酸二水素カリウム (KH_2PO_4) 及びトリエチルアミンは特級試薬（和光純薬工業株式会社製）を使用した。セライトはセライト No.545（和光純薬工業株式会社製）を使用した。

珪藻土カラム：Extrelut NT3（Merck 社製）を使用した。カラムは使用前に、アセトン 10 mL 次いで *n*-ヘキサン 10 mL で洗浄し、吸引して乾燥させた。

カートリッジカラム：Sep-Pak Plus C18（360 mg、Waters 社製）、Sep-Pak Plus Silica（690 mg、Waters 製）、Bond Elut Jr. PSA（500 mg、Varian 社製）、Mega Bond Elut C18（6 mL / 1 g、Varian 社製）、ENVI-Carb / LC-NH₂（500 mg/500 mg/6 mL、Supelco 社製）及び Dual Layer ENVI-Carb II/PSA（500 mg/500 mg/6 mL、Supelco 社製）を使用した。

リン酸緩衝液（0.5 mol/L, pH 7.0）： K_2HPO_4 52.3 g と KH_2PO_4 30.6 g を水約 500 mL で溶解し、1 mol/L 塩酸または 1 mol/L NaOH で pH 7.0 に

調整し、水を加えて 1000 mL とした。

農薬標準品：林純薬工業株式会社、関東化学株式会社、和光純薬工業株式会社、Riedel-de Haën 社または Dr. Ehrenstorfer 社製の残留農薬試験用試薬を用いた。

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℃）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 mg/L（ジエトフェンカルブは 25 mg/L、アルジカルブ、プロパモカルブ、カプタホール、アミラズ代謝物、イマザリル、イプロジオン、チアベンダゾール、トリシクラゾール、アセフェート、メタミドフォス及びピレトリンは 50 mg/L、オキサミル、アセタミプリド、イミベンコナゾール脱ベンジル体、イプロジオン代謝物及びバミドチオンは 100 mg/L）の濃度に調製し、冷凍庫（-30℃）に保存した。

3. 装置

GC/MS：Agilent Technologies 社製ガスクロマトグラフ GC6890（Gerstel 社製のオートサンプラーMPS2 付）及び同社製質量分析計 5973MSD を使用した。また、大量注入では注入口に昇温気化（PTV: programmed temperature vaporizing）注入口（Gerstel 社製 CIS4）を使用し、液化炭酸ガスを冷却に用いた。

濃縮装置：溶媒の濃縮には ESC2000（Savant 社製）を使用した。

4. GC/MS 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 m）、トランスファーライン温度：300℃、イオン源温度：230℃、四重極温度：150℃、キャリアーガス：ヘリウム、イオン化電圧：70 eV（EI モード）、測定方法：SIM（selected ion monitoring）モード（モニターイオンは表 3 参照）及びスキャン（スキャン範囲 50～550 amu、スキャンスピード

2.94 scans/sec)、エレクトロンマルチプライヤ電圧:2800 V (SIM測定)またはオートチューニングでの設定値(スキャン測定)。

5. GC/MS 注入条件

1) スプリットレス注入法

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、注入量:2 µL、注入法:パルスドスプリットレス注入(パルス圧:40 psi、パルス時間:0.8 min、パーズ時間:0.75 min、注入終了後 1 mL/min で定流量モード)、注入口ライナー:不活性化処理済みのシングルテーパ付ライナーに少量の不活性化処理済みの石英ウールを充填したもの。なお、特に記載のない限り、測定はスプリットレス注入法により行った。

2) LVI 法

オープン温度:50°C (2 min)→25°C/min→125°C→10°C/min→300°C (8.5 min)、注入口ライナー:不活性化処理済みのマルチバツフルライナー、PTV 注入口温度:20°C (0.2 min)→720°C/min→300°C (1.41 min)→720°C/min→400°C (10 min)、溶媒排気流速:200 mL/min、注入速度:3.5 µL/sec、注入終了後のライナー内の溶媒排気時間:0.1 min、パーズ開始時間:2.0 min、注入量:40 µL。

6. 試験溶液調製法

(1) 植物油

試料をヘキサンで 0.50 g/mL になるように溶解し、その 3 mL を珪藻土カラムに負荷し、10 分間放置した後、吸引して大部分のヘキサンを除いた。C18 (360 mg) カラムに 0.5% トリエチルアミン含有アセトニトリル 5 mL を注入し、流出液を捨て、加圧してカラム内の溶媒を除いた。このカラムを上記の珪藻土カラムの出口に接続した。カラムにヘキサン飽和アセトニトリルを添加して自然流下で溶出させ、溶出液を最初の 7.5 mL (画分 I) 及びその後の 7.5 mL (画分 II) の二つの画分に分けて採った。画分 II は、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去した後、残留物にエーテル及び *n*-ヘキサン (1:19) 混液 2 mL を加えて溶

解した。シリカゲルカラムにエーテル及び *n*-ヘキサン (1:19) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに画分 II の溶液を注入した後、エーテル及び *n*-ヘキサン (1:19) 混液を注入し、全溶出液 15 mL を採った。この溶出液を画分 I に合わせ、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去した。残留物をアセトン及び *n*-ヘキサン (1:1) 混液 2 mL を加えて溶解した。PSA カラムにアセトン及び *n*-ヘキサン (1:1) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに上記で得られた溶液を注入した後、アセトン及び *n*-ヘキサン (1:1) 混液を注入し、全溶出液 20 mL を採った。LVI 法で測定する場合には、溶出液を正確に 20 mL としたものを試験溶液とした。スプリットレス注入法で測定する場合には、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去した後、残留物をアセトン及び *n*-ヘキサン (1:1) 混液に溶かして、正確に 1 mL としたものを試験溶液とした。

(2) 製粉化穀類、果実果汁、乾燥果実及びトマト加工品

1) 抽出

① 脂肪性食品の場合(製粉化穀類)

試料 10.0 g に水 20 mL を加え、15 分間放置した。これにアセトニトリル 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトニトリル 20 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とした。抽出液 20 mL を採り、塩化ナトリウム 10 g 及びリン酸緩衝液 20 mL を加え、10 分間振とうした。静置した後、分離した水層を捨てた。C18 (1 g) カラムにアセトニトリル 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに上記のアセトニトリル層を注入し、さらに、アセトニトリル 2 mL を注入して、全溶出液を採った。この溶出液に、その 1/2 量のトルエン及び無水硫酸ナトリウムを加えて 5 分間振とうして脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去した。残留物にアセトニトリル及びトルエン (3:1) 混液 2 mL を加えて溶解した。

②非脂肪性食品の場合(果実果汁、乾燥果実及びトマト加工品)

試料 20.0 g にアセトニトリル 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトニトリル 20 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とした。抽出液 20 mL を採り、塩化ナトリウム 10 g 及びリン酸緩衝液 20 mL を加え、10 分間振とうした。静置した後、分離した水層を捨てた。アセトニトリル層にその 1/2 量のトルエン及び無水硫酸ナトリウムを加えて 5 分間振とうして脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去した。残留物にアセトニトリル及びトルエン(3:1)混液 2 mL を加えて溶解した。

2) 精製

ENVI-Carb II/PSA カラムにアセトニトリル及びトルエン(3:1)混液 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに 1) 抽出で得られた溶液を注入し、さらに、アセトニトリル及びトルエン(3:1)混液 30 mL を注入して、全溶出液を採った。溶出液を 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去した。残留物をアセトン及び *n*-ヘキサン(1:1)混液に溶かして、正確に 1 mL としたものを試験溶液とした。

7. 添加回収実験

試料に農薬標準混液を添加し、30 分間放置してから、試験溶液の調製を行った。

8. 定量

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。検量線は、農薬標準混液をアセトン及び *n*-ヘキサン(1:1)混液で希釈して調製した。

C. 研究結果及び考察

1. 植物油中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法

1-1. 脱脂・精製方法の改良

平成 17 年度は、分析対象農薬を約 60 農薬から約 180 農薬(加工食品に基準値が設定されていない農薬を含む)に拡大して、平成 16 年度に

開発した植物油の残留農薬 GC/MS 一斉分析法の汎用性について検討した。その結果、フルバリネートやイミベンコナゾールなど保持時間の遅いいくつかの農薬の回収率が低かった。この低回収率の原因は、マトリックス標準液を用いた検討から、GC/MS 測定の問題であり、回収はされていることがわかった。即ち、試験溶液中の夾雑成分(特に難揮発性成分)による負のマトリックス効果により、ピーク面積が減少したものと推定された。このことは、脱脂・精製が不十分であることを示すものである。そこで、夾雑成分の除去効果を向上させるために脱脂・精製法の改良について検討した。

珪藻土カラムと C18 カラムの連結カラムからの農薬の溶出には、ヘキサン飽和アセトニトリル 15 mL が必要であるが、これを 2 分割し、後半の 7.5 mL をシリカゲルカラムを用いて精製した(方法の詳細は試験溶液調製法の項参照)。その結果、試験溶液への油脂混入量は、シリカゲルカラム精製を行うことにより、精製を行わない場合の 9.7 ± 0.3 mg から 1.9 ± 0.1 mg (平均 \pm SD, $n=4$) へと大幅に減少した。また、シリカゲルカラム精製を行うことにより、フルバリネート及びイミベンコナゾールの回収率もそれぞれ、 $57 \pm 5\%$ 及び $33 \pm 3\%$ (平均 \pm SD, $n=3$) から $98 \pm 2\%$ 及び $93 \pm 1\%$ (平均 \pm SD, $n=3$) に改善された。これは、シリカゲルカラム精製を行ったことにより夾雑成分が減少し、負のマトリックス効果が低減されたためと考えられた。

イマザリルは、平成 16 年度の方法では低回収率であったが、フルバリネートやイミベンコナゾールと同様にマトリックス標準液を用いた検討から、回収はされていることがわかった。しかし、シリカゲルカラム精製を行ってもイマザリルは低回収率であった。これは、イマザリルは珪藻土カラムからは問題なく溶出されるものの、C18 カラムからの溶出が遅いため大部分が画分 II に溶出されるが、シリカゲルカラム精製の溶出条件では回収されないことが原因であった。そのため、C18 カラムからのイマザリルの溶出を改善し、画

分 I に溶出させることができれば、回収される可能性があった。イマザリルが C18 カラムから溶出されにくい原因としては、イマザリルが塩基性であり、そのためカラム担体表面のシラノール基と相互作用するためと考えられた。そこで、C18 カラムからのイマザリルの溶出を改善する方法として、イマザリルと担体との間の相互作用を弱めるために、C18 カラムをトリエチルアミンで前処理する方法について検討した。C18 カラムの前処理溶媒としてトリエチルアミン含有アセトニトリルを用い、トリエチルアミン濃度について 0、0.25、0.5、1、2、4 及び 6% で検討した。検討では、トリエチルアミン含有アセトニトリル 5 mL を C18 カラムに注入し、流出液を捨て、加圧してカラム内の溶媒を除いた後、農薬を添加し、ヘキサノールとアセトニトリルで溶出して、カラムからの農薬の回収率を求めた。その結果、イマザリル、プロパモカルブ及びアミトラズ代謝物は、トリエチルアミン無添加では回収されなかったが、0.25% 以上の添加でほぼ 100% 回収された。しかし、カプタホールの回収率は、トリエチルアミン濃度が 0.5% 以下の時は 80% 以上であったが、1% 添加では 70% となり、その後濃度依存的に減少した。カプタホールでトリエチルアミンによる分解が見られたものの、0.5% では問題がなかったことから、アセトニトリルへ添加するトリエチルアミン濃度は、0.5% が良いことがわかった。イマザリルの C18 カラムからの溶出が改善された理由としては、トリエチルアミンにより担体表面のシラノール基がマスクングされ、イマザリルと担体間の相互作用が減少したためと考えられた。

脱脂・精製方法の主な改良点は次の 2 点である。①珪藻土カラムと C18 カラムの連結カラムからの溶出液を 2 分割し、後半の 7.5 mL をシリカゲルカラムで精製した。②C18 カラムを使用前に 0.5% トリエチルアミン含有アセトニトリルでコンディショニングした。これにより、回収率を損じることなく、精製効果を向上させることができた。

1-2. 添加回収実験

植物油に農薬を添加し、開発した方法を用い

て植物油からの農薬の回収率を求め、その結果を農薬の種類別にまとめ表 4 に示した。以下、スプリットレス注入法で求めた回収率について考察した。

加工食品に残留基準が設定された農薬では、ジコホールがまったく回収されず、アミトラズ及びアミトラズ代謝物は 50% 未満の低回収率であり、ジクロロボス及びメソミルオキシムはそれぞれ 50% 及び 65% とやや低回収率であった以外は 70~120% の良好な回収率が得られた。ジコホールについては、その分解物である 4,4'-ジクロロベンゾフェノンとしては 143% の回収率が得られており、分析中にほとんどすべて分解したものと考えられた。

加工食品に基準がない農薬では、キノメチオネート、クロタロニル及びペンタクロロフェノールはまったく回収されず、プロパモカルブ、ピフェニル、EPTC、ブチレート及びエチオフェンカルブが 50% 未満の低回収率であった。このほか、2,4-ジクロロアニリン、EPN 及びヘキサクロロベンゼンの回収率がそれぞれ 54%、55% 及び 58% とやや低く、ピラクロホス、アジンホスメチル及びオキサミルの回収率が 120% 以上となった以外は、70~120% の良好な回収率が得られた。また、分析精度については、回収率の RSD 値の平均値は 2.8% (0.5~7.8%) であり、精度の良い結果が得られた。

1-3. スプリットレス注入法と LVI 法の比較

スプリットレス注入法と LVI 法の比較をするために、添加回収実験で得られた試験溶液を両注入法で GC/MS 測定して回収率を求め、その結果を表 4 に示した。また、スプリットレス注入法で求めた回収率を横軸に、LVI 法で求めた回収率を縦軸にとって図 1 に示した。スプリットレス注入法は、LVI 法よりも回収率が 100% を超える農薬が多かった。これは、試験溶液を測定した時に生じる正のマトリックス効果によるピーク面積の増大が、スプリットレス注入法の方が LVI 法より大きかったためと考えられた。即ち、LVI 法はスプリットレス注入法よりもマトリックス効果を受けに

くことが示唆された。

イプロジオン及びイプロジオン代謝物の LVI 法で求めた回収率は、スプリットレス注入法で求めた場合の半分以下であった。これらの農薬は GC 測定時にスプリットレス注入法でも分解し易い農薬であることから、LVI 法の熱脱着時に分解したものと考えられた。このように、LVI 法は、熱に不安定な農薬に対しては、スプリットレス注入法よりも分解し易い場合があることが示唆された。

ブチレート及び EPTC の回収率は、LVI 法の方がスプリットレス注入法より約 20% 高かった。これらの農薬は揮発性が高く、濃縮操作中に損失し易い農薬である。LVI 法では PSA カラム精製後の濃縮操作を行わないためにより高回収率になったと考えられた。このように、揮発性の高い農薬に対しては、LVI 法では濃縮操作を省略できるため、濃縮時の損失を軽減できると思われた。

分析精度については、スプリットレス注入法及び LVI 法で求めた回収率の RSD 値の平均値は、それぞれ 2.8% (0.5~7.8%) 及び 3.6% (0.8~9.6%) であった。LVI 法の RSD 値の方が若干大きかったが、いずれも精度の良い良好な結果が得られた。

以上の検討から、LVI 法は熱分解し易い一部の農薬では、スプリットレス注入法よりも結果が劣ったが、それ以外の農薬では、スプリットレス注入法よりもマトリックス効果を受けにくく良好な結果が得られた。植物油中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法に LVI 法を適用した場合には、PSA カラム精製後の溶出液を濃縮せずにそのまま GC/MS 測定することができるため、揮発性の高い農薬の損失を軽減でき、かつ分析の迅速化及び簡便化を図ることができた。

2. 製粉化穀類、果実果汁、乾燥果実及びトマト加工品中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法

農薬の残留基準が設定された加工食品のうち、植物油に次いで基準値の設定品目数が多い、製粉化穀類、果実果汁、乾燥果実及びトマ

ト加工品中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法について検討した。これらの食品は、加工程度が低く原料となる食品の残留農薬分析法が適用できる可能性がある。そこで、厚生労働省より通知された GC/MS による農薬等の一斉試験法(農産物)(以下、通知法と略す。)²⁾を参考として分析法を検討した。

2-1. 精製カラムの検討

通知法では、精製に ENVI-Carb/LC-NH₂ カラムを使用しているが、その精製効果を類似した特性を持つ ENVI-Carb II/PSA カラムと比較した。即ち、試料に小麦全粒粉及びホウレンソウを用いて、通知に示された方法で試験溶液を調製し、精製効果及び農薬の回収率について比較した。小麦全粒粉及びホウレンソウともに、試験溶液の外観、スキャン測定時のトータルイオンクロマトグラム及び回収率については、両精製カラムで大きな違いは見られなかった。試験溶液中の残留物量について比較したところ、小麦全粒粉では、試料 1 g 相当量を用いて試験溶液を調製した場合の残留物量は、ENVI-Carb/LC-NH₂ では 1.0 mg、ENVI-Carb II/PSA では 0.4 mg であった。同様に、ホウレンソウでは、試料 2 g 相当量を用いて試験溶液を調製した場合の試験溶液中の残留物量は、ENVI-Carb/LC-NH₂ では 1.2 mg、ENVI-Carb II/PSA では 0.7 mg であった。小麦全粒粉及びホウレンソウのいずれの場合も、ENVI-Carb II/PSA は、ENVI-Carb/LC-NH₂ より残留物量が少なく、精製効果が高いことがわかった。そのため、精製カラムには ENVI-Carb II/PSA を用いることにした。また、ENVI-Carb/LC-NH₂ カラム及び ENVI-Carb II/PSA カラムともに、ほとんどの農薬はアセトニトリル及びトルエン(3:1)混液 20 mL で溶出されたが、ヘキサクロロベンゼン及びピリミジフェンの溶出には両カラムとも 30 mL 必要であった。そのため、ENVI-Carb II/PSA カラムからの農薬の溶出には、アセトニトリル及びトルエン(3:1)混液 30 mL を用いることにした。

2-2. 脱水法の検討

通知法では、抽出液を塩析後、得られたアセトニトリル層に無水硫酸ナトリウムを添加して脱水した後、濃縮操作を行っている。しかし、濃縮後、容器内に塩析に使用した塩化ナトリウムが多量に残り、その後の操作性が悪い場合があった。これは、アセトニトリル抽出液中の水の除去が不十分なため、塩化ナトリウムが含水したアセトニトリル抽出液中に溶解しているためと考えられた。塩析後のアセトニトリル抽出液に無水硫酸ナトリウムを添加しても脱水されないことが尾花ら³⁾により指摘されている。また、尾花らはアセトニトリル抽出液にトルエンを添加することにより、ある程度水を除去することができることを報告している。そこで、無水硫酸ナトリウムによる脱水の際に、トルエンを添加した場合の脱水効果について検討した。

小麦全粒粉及びハウレンソウを用いて、通知法に従って操作し、得られた塩析後のアセトニトリル抽出液を検討に用いた。アセトニトリル抽出液に、トルエン濃度が小麦全粒粉では0~30%に、ハウレンソウでは0~50%になるようにトルエンを添加し、次いで無水硫酸ナトリウムを加えて5分間振とうした後、ろ過により無水硫酸ナトリウムを除き、溶媒を除去して残留物量を測定した。その結果、図2に示したように、残留物量はトルエン濃度の増加とともに減少し、25%以上では容器内に塩化ナトリウムの析出はほとんど見られなくなった。トルエンの添加により、塩化ナトリウムの析出が見られなくなる現象は尾花らも報告しており、アセトニトリル抽出液から分離した水が無水硫酸ナトリウムに保持される際に塩化ナトリウムもいっしょに除かれたためと考えられた。また、トルエン添加の回収率に対する影響をハウレンソウで検討したところ、図3に示したように、ジスルホトン、チオメトン及びエチオフェンカルブの回収率は、トルエン濃度の増加とともに増加し、25%以上でほぼ一定になった。これらの農薬は、操作中に分解されやすい農薬であることから、トルエン添加により夾雑成分が減少したことにより、分解が抑制されたものと考えられた。以上の結

果から、アセトニトリル抽出液の無水硫酸ナトリウムによる脱水時にトルエンを添加することは、塩化ナトリウムの析出を抑制して操作性を改善できるとともに、一部の農薬では回収率の増加がみられた。トルエンの添加量については、トルエン濃度25%以上で効果がみられたことから、操作性を考慮してアセトニトリル抽出液の1/2量(トルエン濃度として33%)を添加することにした。

2-3. 添加回収実験

確立した方法(脱水時にトルエン添加)及び通知法(脱水時にトルエン無添加)を用いて、製粉化穀類及びトマト加工品からの農薬の添加回収率を求め、両者を比較した。試料には、製粉化穀類では小麦全粒粉を、トマト加工品ではトマトペーストとトマトピューレーの等量混合物を用い、それぞれ試験溶液調製法の項の①脂肪性食品の場合及び②非脂肪性食品の場合に従って試験溶液を調製した。通知法では、精製カラムにENVI-Carb II/PSAを用いた以外は、通知法に従って試験溶液を調製した。

小麦全粒粉の結果を表5及び図4に、トマト加工品の結果を表6及び図5に示した。脱水時のトルエン添加の有無に係わらず、一部の農薬を除き両方法間で回収率及びRSD値に大きな違いは見られなかった。ブチレート、EPTC、ジクロロボス、ビフェニル及び2,4-ジクロロアニリンについては、トルエンを添加した方がやや回収率が高く、RSD値も小さい結果が得られた。これらの農薬は揮発性が高く、濃縮時に損失しやすい農薬であることから、アセトニトリルよりも沸点の高いトルエンが、濃縮時にキーパーとして働き損失を防いだことが考えられた。脱水時のトルエン添加は、通知法と同様な回収率が得られ、濃縮時間は延長するものの揮発性農薬の損失防止に効果があるほか、濃縮後の塩化ナトリウムの析出もほとんどないためその後の操作性も良く、有効な方法であると考えられた。

小麦全粒粉で回収率に問題のみられた農薬を以下に示した。これら以外の農薬では、70~120%の良好な回収率が得られた。

①加工食品に残留基準が設定された農薬

- ・未回収:ジコホール
- ・<50%:アミラズ、ジクロロボス
- ・50~70%:ジフェニルアミン、ホレート

②加工食品に残留基準がない農薬

- ・未回収:カプタホール、キャプタン、キノメチオネート、クロタロニル、ジクロフルアニド、ペンタクロロフェノール
- ・<50%:プロパモカルブ、エチオフェンカルブ、2,4-ジクロロアニリン、チオメトン、メタミドホス、ジスルホチン、ビフェニル、アセフェート
- ・50~70%:ヘキサクロロベンゼン、ブチレート、EPTC、シラフルオフエン、アルドリン、オメトエート、*o*-フェニルフェノール、キントゼン
- ・>120%:オキサミル

トマト加工品で回収率に問題のみられた農薬を以下に示した。これら以外の農薬では、70~120%の良好な回収率が得られた。

①加工食品に残留基準が設定された農薬

- ・未回収:ジコホール
- ・<50%:アミラズ
- ・50~70%:ジクロロボス、メソミルオキシム

②加工食品に残留基準がない農薬

- ・未回収:カプタホール、キャプタン、キノメチオネート、クロタロニル、ジクロフルアニド及びペンタクロロフェノール
- ・<50%:プロパモカルブ、メトリブジン、オメトエーオ、アセフェート及びメタミドホス
- ・50~70%:ビフェニル、2,4-ジクロロアニリン、ホスメット、アクリナトリン、EPTC、ジクロロボス、ブチレート、バミドチオン、マラオクソン、ヘキサクロロベンゼン
- ・>120%:オキサミル

果実果汁及び乾燥果実についても試験溶液調製法の項の②非脂肪性食品の場合に従って試験溶液を調製し同様に回収率を求め、結果を表7に示した。果実果汁ではトマト果汁、りんご果汁、オレンジ果汁及びぶどう果汁の等量混合物を、乾燥果実では干しぶどうと乾燥プルーン

の等量混合物を試料に用いた。トマト加工品の場合と比較して、回収率が120%を超える農薬が多かったが、概ね良好な結果が得られ、果実果汁及び乾燥果実に対しても、開発した分析法が適用できることがわかった。

果実果汁で回収率に問題のみられた農薬を以下に示した。これら以外の農薬では、70~120%の良好な回収率が得られた。

①加工食品に残留基準が設定された農薬

- ・未回収:ジコホール
- ・<50%:アミラズ代謝物
- ・50~70%:ジクロロボス
- ・>120%:プロクロラズ、ビフェナゼート、メソミルオキシム

②加工食品に残留基準がない農薬

- ・未回収:キノメチオネート、ペンタクロロフェノール
- ・<50%:カプタホール、キャプタン、プロパモカルブ、クロタロニル、アセフェート、メタミドホス、ビフェニル、アミラズ代謝物
- ・50~70%:ジクロフルアニド、オメトエート、2,4-ジクロロアニリン、EPTC、ブチレート
- ・>120%:アジンホスメチル、ピラクロホス、ジフェノコナゾール、ビテルタノール

乾燥果実果汁で回収率に問題のみられた農薬を以下に示した。これら以外の農薬では、70~120%の良好な回収率が得られた。

①加工食品に残留基準が設定された農薬

- ・<50%:ジコホール
- ・50~70%:アミラズ
- ・>120%:ファモキサドン、ビフェナゼート

②加工食品に残留基準がない農薬

- ・未回収:キノメチオネート、クロタロニル、ジクロフルアニド、ペンタクロロフェノール
- ・<50%:カプタホール、キャプタン、プロパモカルブ、ビフェニル、2,4-ジクロロアニリン
- ・50~70%:アセフェート、メタミドホス、EPTC、ブチレート、ヘキサクロロベンゼン、*o*-フェニルフェノール
- ・>120%:ビテルタノール、イミベンコナゾール

分析精度については、いずれの加工食品においても回収率の RSD 値は概ね 5%であり、精度の良い結果が得られた。

D. 結論

- 1) 珪藻土カラムと C18 カラムの連結カラムで脱脂後、シリカゲルカラム及び PSA カラムで精製し GC/MS 測定する簡便で迅速な植物油中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法を開発した。開発した分析法は、簡便な操作で短時間で分析できることから、検査業務の効率化・迅速化が期待できる。
- 2) 植物油中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法では、LVI 法を用いることにより、PSA カラム精製後の溶出液を濃縮せずにそのまま GC/MS 測定することができ、分析の迅速化及び簡便化を図ることができた。
- 3) 植物油の残留農薬分析法で使用した珪藻土カラムを用いた脱脂方法は、GPC(ゲル浸透クロマトグラフィー)法などのような自動化は困難であるものの、特殊な装置は不要で、GPC 法よりも溶媒使用量が少ないといった利点があり、他の高脂肪含有食品の脱脂操作への応用が期待される。
- 4) 製粉化穀類、果実果汁、乾燥果実及びトマト加工品中の残留農薬 GC/MS 一斉分析法について検討し、農薬を試料からアセトニトリル抽出し、塩析により水層を除いた後、非脂肪性食品

についてはそのまま、脂肪性食品については C18 カラムで精製後、トルエン添加-無水硫酸ナトリウム脱水により脱水後、ENVI-Carb II/PSA カラムで精製する方法を開発した。

- 5) 開発した植物油、製粉化穀類、乾燥果実、果実果汁及びトマト加工品に対する残留農薬 GC/MS 一斉分析法は、市販のカートリッジカラムなどを用い、特殊な装置などは使用しないので、実際の行政検査等での残留農薬分析にそのまま活用が可能である。

E. 参考文献

- 1) 食品に残留する農薬等に関するポジティブリスト制度における暫定基準の設定について(最終案)(厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課、平成 17 年 6 月 3 日)
- 2) 「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(一部改正)」(厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知、食安発第 1129002 号、平成 17 年 11 月 29 日)
- 3) 尾花ら、食品衛生学雑誌、42(2)、148-153 (2001)