

200939011B

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

食品中残留農薬等の汚染実態把握と 急性暴露評価に関する研究

平成19～21年度 総合研究報告書

研究代表者 静岡県立大学食品栄養科学部 米谷 民雄

平成22(2010)年3月

目 次

I. 総合研究報告

- 食品中残留農薬等の汚染実態把握と急性暴露評価に関する研究 1
米谷 民雄

II. 分担研究報告

1. 食品中残留農薬のスクリーニング分析法の開発 7
根本 了
2. 畜水産食品中残留農薬及び動物用医薬品の包括的分析法の開発 13
坂井 隆敏
3. 農産物中残留農薬のGC・LC併用による残留実態解析 21
米谷 民雄
4. 残留農薬等の急性暴露評価手法の検討 49
—残留農薬等暴露推定のための食品摂取量データベースの検討—
～特に短期暴露推定量について～
吉池 信男
山田 友紀子

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 59

IV. 研究成果の刊行物・別刷 63

I. 総括研究報告

食品中残留農薬等の汚染実態把握と急性暴露評価に関する研究

研究代表者 米谷 民雄

食品中残留農薬等の汚染実態把握と急性暴露評価に関する研究

研究代表者 米谷民雄 静岡県立大学・食品栄養科学部 客員教授

研究要旨

①食品中残留農薬のスクリーニング分析法の開発

食品中残留農薬の迅速で効率的なスクリーニング分析法開発の一環として、抽出・精製における効率化・迅速化を図るために、19年度はGC-MS測定が適さないLC-MS測定対象農薬の超臨界流体抽出(SFE)法への適用について検討した。その結果、GC-MS測定対象農薬の場合と異なり、LC-MS測定対象農薬では農薬のlog Pow(1-オクタノール/水分配係数)によらず低回収率となる農薬が多くみられたことから、これらの農薬に適したSFE条件の検討あるいは加圧液体抽出(PLE)法の適用を検討する必要があることがわかった。

次いで、測定における効率化・迅速化を図るために、残留農薬分析に適したGC-MS/MS(ガスクロマトグラフィー・タンデム型質量分析法)およびLC-TOFMS(液体クロマトグラフィー・飛行時間型質量分析法)の測定条件について検討した。GC-MS/MS測定では、20年度に食品中の夾雑成分の影響を受けにくいMS/MS条件(プリカーサーイオン、プロダクトイオンおよびコリジョンエネルギー条件)の選択法について検討し、従来の標準品のシグナル強度を用いた方法よりも選択性および感度において優れたMS/MS条件を求める方法を開発した。21年度は、開発したMS/MS条件選択法を様々な種類の28農薬に適用し、結果を従来の方法と比較した。その結果、開発した方法で求めた結果は、検討したほとんどの農薬で従来の方法で得られた結果とは異なっていたことから、今回開発した方法を用いることにより、GC-MS/MS測定の選択性および感度の向上が期待できる。LC-TOFMS測定では、農薬分析に適した測定条件を求めるために、農薬の分子量範囲の5農薬(分子量約140~870)を用いて、コーン電圧等の測定パラメーターの感度に対する影響について検討した。

②畜水産食品中残留農薬および動物用医薬品の包括的分析法の開発

検査機関におけるより効率的な検査体制の確立を目的として、畜水産食品に基準が設定されている農薬および動物用医薬品(農薬等)の包括的一斉分析法の開発を検討した。可能な限り多くの農薬等に適用可能な抽出法について検討を行った後、検討した抽出法を用いて得られた抽出液に対して、多くの農薬等を効果的且つ効率的に精製可能な精製方法の追加を追加し、一斉分析法の開発を試みた。

③農産物中残留農薬のGC・LC併用による残留実態解析

農産物中にどれくらいの種類の農薬が残留しているかを調べるために、同一農産物について異なる地域・業者からの3製品の混合試料を作成し、GC/MSとLC/MSによる一斉試験法を用いて、429成分（茶の場合は378成分）の残留農薬分析を実施した。19年度は中国産（5作物）と国産（20作物）の農産物を、20年度は、茶試料についての茶葉と熱湯抽出液の分析、ポストハーベスト農薬（国内では食品添加物）の使用が考えられる果実の分析、果皮も含めて基準値が設定されているため農薬が検出される可能性が高いと考えられる果実の分析、食品加工による農薬の消長を調査する際の対象食品を選択する目的での農産物－加工食品の組み合わせについての分析を実施した。21年度は緑茶や玉露などのツバキ科チャ製品および他の植物からの茶の製品を対象とし、茶葉および熱湯抽出液について分析を行った。茶葉と熱湯抽出液の両者で検出された農薬については、熱湯中への移行比率に大きな差が見られた。茶製品の調査により、加工食品中から検出された農薬につき原材料に戻って適否を判定するための加工係数の必要性や、茶製品に統一的に適用できる一斉試験法の必要性、ツバキ科チャ以外の茶の食品分類の重要性が再認識された。

④残留農薬等の急性暴露評価手法の検討

食品中に残留する農薬、重金属、および食品添加物等の化学物質の暴露評価を行うことは、食品安全分野におけるリスクアセスメントの重要課題の一つであり、これらの物質を食品からどのくらい摂取しているかを把握するためには、長期慢性影響と急性影響の2つの観点から個々の食品についての詳細な摂取量データが必要である。慢性的暴露評価を行う際には、通常行われる1日から数日間の摂取量データではなく、習慣的な摂取量データを得ることが必要である。一方、急性暴露評価を行うためには、ある特定の食品の「多食者」が1日にどの程度の量を摂取するかを把握する必要がある。そこで本研究では、残留農薬およびその他汚染物質の暴露評価の精密化を目的として、摂取量パターンを慢性暴露、急性暴露の両面から検討した。19年度は、多食量摂取者を抽出するための半定量的な食物摂取頻度調査票を用いたデータの分析を行った。20年度は、1年4季節（平日2日と休日1日を含む連続しない3日間）の詳細な摂取量データを基として、短期暴露評価のための食品摂取量データベース（n=26,695人・日）を作成するとともに、JMPRの考え方に準じた短期暴露評価法を提唱した。21年度は、2年目に検討した食品グループ、食品重量換算係数をさらに詳細に検討し、ユニット重量や廃棄率情報の拡充と、データベースの統合を図った。これらのデータベースを基に、冷凍ギョウザ事件後に食品安全委員会が設定した急性参照用量の観点から、メタミドホス・アセフェートおよびアセタミプリドの残留基準値が妥当かを検討し、その結果、基準値の変更や調整が行われた。このように、摂取量データを整備しそれを用いた評価手法を確立し、残留基準の評価に反映させることにより、食品の安全確保をより確かなものに行うことができる。

分担研究者

根本 了（国立医薬品食品衛生研究所）

坂井隆敏（国立医薬品食品衛生研究所）

吉池信男（青森県立保健大学）

研究協力者

山田友紀子（農林水産省大臣官房審議官）

分析委託

（株）住化分析センター

A. 研究目的

①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導入にともない、基準値が設定された農薬等の数が大幅に増加し、また、対象食品が畜水産物にも拡大されたことから、より効率的で信頼性の高いスクリーニング分析法が求められている。スクリーニング分析法はこれまでもいくつも提案されているが、多くは従来の技術の組合せによる方法であり、その処理能力には限界がある。一方、分析に用いる技術は日進月歩しており、これまで以上に簡便で信頼性の高い分析法を開発するには新規技術の応用が不可欠と考えられる。そこで、自動化が可能で抽出の選択性が高い超臨界流体抽出（SFE: supercritical fluid extraction）および加圧液体抽出（PLE: pressurized liquid extraction）を食品（農産物）中の残留農薬分析に応用し、新しいスクリーニング分析法の開発を行う。スクリーニング分析においては、多数の農薬を様々な食品マトリックス中から検出する必要があることから、より選択性の高い検出法が必要である。そこで、測定にはGC/MS/MS法（ガスクロマトグラフィー・タンデム型質量分析法）およびGC測定が困難な農薬を

対象としてLC/TOF-MS法（液体クロマトグラフィー・飛行時間型質量分析法）の活用を試みる。

②今回の農薬等に関するポジティブリスト制度においては、畜水産物にも農薬の基準値が設定されている。そこで、畜水産物を対象とした農薬および動物用医薬品の包括的な共通スクリーニング分析法を開発する。このように、新規技術を取り入れたスクリーニング分析法と農薬・動物用医薬品の共通スクリーニング分析法を開発することにより、効率的な農薬分析が可能になり、検査時間の短縮と省力化が期待できる。

③今回のポジティブリスト制度のスタート時における農薬等の数は799にも達した。当然ながら分析対象化合物の極性により、GC測定が適しているものとLC測定が適しているものがある。そこで、残留実態を解析するためには、両法を併用した分析が必要となる。そこで、GCおよびLCによる一斉分析を実施し、農薬の残留実態を解析することにした。

④一方、残留農薬の暴露評価を行うにあたり、急性暴露評価の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検討されている。そこで、急性暴露評価手法の確立を目指した検討を実施する。この評価手法が確立できれば、残留基準の評価に反映させる事により、食品の安全確保をより確かなものにする事ができる。

以上のような4つの分担課題の研究を実施することにより、食の安全確保をより一層確かなものにする事ができ、国民の健康維持に寄与しうると考えられる。

B. 研究内容

①～④の研究は、①スクリーニング分析法、②包括的分析法、③残留実態解析、④短期暴露量推定と、分野が分かれているため、それぞれの分担課題について、個別に総合研究報告書を作成した。

C. 健康危険情報

特になし。

D. 研究発表

1. 論文発表

1) Ishiwaki A, Yokoyama T, Fujii H, Saito K, Nozue M, Yoshita K, Yoshiike N: A statistical approach for estimating the distribution of usual dietary intake to assess nutritionally at-risk populations based on the new Japanese Dietary Reference Intakes (DRIs) : J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). 53(4), 337-44 (2007).

2) 米谷民雄：農薬等のポジティブリスト制度の告示及びその後の対応と海外の動き

農薬等のポジティブリスト制度の告示及びその後の対応と海外の動き
米谷民雄
本稿は、農薬等のポジティブリスト制度の告示及びその後の対応と海外の動きについて、その背景、内容、影響、今後の展望などを解説する。また、海外の動向についても紹介する。

食衛誌, 48(6), J402-J410 (2007)

2. 学会発表

なし。

E. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

II. 分担研究報告

1. 食品中残留農薬のスクリーニング分析法の開発

研究分担者 根本 了

食品中残留農薬のスクリーニング分析法の開発

研究分担者 根本 了 国立医薬品食品衛生研究所 食品部第一室長

研究要旨

食品中残留農薬の迅速で効率的なスクリーニング分析法開発の一環として、抽出・精製における効率化・迅速化を図るために、19年度はGC-MS測定が適さないLC-MS測定対象農薬の超臨界流体抽出(SFE)法への適用について検討した。その結果、GC-MS測定対象農薬の場合と異なり、LC-MS測定対象農薬では農薬の $\log Pow$ (1-オクタノール/水分配係数)によらず低回収率となる農薬が多くみられたことから、これらの農薬に適したSFE条件の検討あるいは加圧液体抽出(PLE)法の適用を検討する必要があることがわかった。

次いで、測定における効率化・迅速化を図るために、残留農薬分析に適したGC-MS/MS(ガスクロマトグラフィー・タンデム型質量分析法)及びLC-TOFMS(液体クロマトグラフィー・飛行時間型質量分析法)の測定条件について検討した。GC-MS/MS測定では、20年度に食品中の夾雑成分の影響を受けにくいMS/MS条件(プリカーサーイオン、プロダクトイオン及びコリジョンエネルギー条件)の選択法について検討し、従来の標準品のシグナル強度を用いた方法よりも選択性及び感度において優れたMS/MS条件を求める方法を開発した。21年度は、開発したMS/MS条件選択法を様々な種類の28農薬に適用し、結果を従来の方法と比較した。その結果、開発した方法で求めた結果は、検討したほとんどの農薬で従来の方法で得られた結果とは異なっていたことから、今回開発した方法を用いることにより、GC-MS/MS測定の選択性及び感度の向上が期待できる。LC-TOFMS測定では、農薬分析に適した測定条件を求めるために、農薬の分子量範囲の5農薬(分子量約140～870)を用いて、コーン電圧等の測定パラメーターの感度に対する影響について検討した。

A. 研究目的

食品中残留農薬のより迅速で効率的なスクリーニング分析法を開発するためには、抽出・精製及び測定 of 効率化・迅速化が必要である。抽出・精製の効率化・迅速化検討では、SFE法の残留農薬分析への応用について検討した。SFE法については、これまでGC-MS測定対象農薬について検討してきたが、適用範囲を拡大するために、LC-MS測定対象農薬への適用について検討した。

食品中の残留農薬分析では、複雑な食品成分の中から多数の農薬を効率的に検出する必要があり、そのためにはより選択性が高い測定法が必要である。MS/MS測定は、目的イオン(プリカーサーイオン)から衝突解離により生成した解離イオン(プロダクトイオン)を検出するため、

シングルMS測定よりも夾雑成分の妨害を受けにくい。TOFMSは精密質量数の測定が可能であるため、これまで主に構造解析等に利用され、微量化合物の定量分析への応用はほとんどされていないが、残留農薬分析に用いることができれば、精密質量測定を利用した質量分離により、農薬と試料由来の夾雑成分を分離測定することが可能と思われる。そこで、測定の効率化・迅速化検討では、GC-MS/MS及びLC-TOFMSの残留農薬分析に適した測定条件について検討した。食品中の残留農薬分析にGC-MS/MSあるいはLC-TOFMSのような選択性の高い検出法を用いることができれば、食品成分による測定の妨害を軽減できるため、定量・確認が容易となり、残留農薬分析の一層の迅速化・効率化が期待できる。

B. 研究方法

LC-MS 測定対象農薬の SFE 法への適用を検討するため、先ず 1 回の注入で 180 農薬を測定可能な LC-MS/MS 測定法を確立した。次に SFE 法を用いてこれらの農薬の小麦全粒粉からの添加回収率を求めるとともに、LC-MS/MS 測定に対する試料マトリックスの影響について検討した。

GC-MS/MS 測定条件の検討では、オキシクロルデンをモデル化合物に用いて、最適な MS/MS 条件を求める方法について検討した。検討に当たっては、食品成分の影響を受けにくい MS/MS 条件を求めるために、8 食品(リンゴ、オレンジ、ばれいしょ、キャベツ、ホウレンソウ、玄米、牛(筋肉)及び牛(肝臓))のブランク試験溶液の混合溶液を用いて食品成分の影響について考慮した。開発した MS/MS 条件選択法を 28 農薬に適用し、最適な MS/MS 条件を求めた。

LC-TOFMS 測定条件の検討では、農薬分析に適した LC-TOFMS 測定条件を求めるために、エテホン(M.W. 144.5)、クミルロン(M.W. 302.8)、フルメトリン(M.W. 510.4)、スピノシン D(M.W. 746.0)及びアベルメクチン 8,9 Z-異性体 B1a(M.W. 873.1)を用いて、コーン電圧、アパーチャー1電圧及びキャピラリー電圧の感度に対する影響について検討した。

C. 研究結果及び考察

1. LC-MS 測定対象農薬の SFE 法への適用検討

SFE 法では、GC-MS 測定対象農薬の場合には、 $\log Pow$ が-1 以上の農薬についてはほぼ回収されたのに対して、LC-MS 測定対象農薬では、 $\log Pow$ に依存して回収率が増加する傾向は見られたものの、農薬の $\log Pow$ によらず低回収率となる農薬も多かった。LC-MS 測定対象農薬は、熱に不安定であるほか、GC カラム液相との相互作用が強いため、GC-MS 測定には適さない農薬であることから、試料マトリックスと相互作用をより起こしやすいと考えられる。そのため、GC-MS 測定対象農薬と同じ SFE 条件では抽出が不十分となり、多くの農薬で $\log Pow$ によらず低回収率となったものと思われる。そのため、LC-MS 測定対象農薬については、これらの農薬により適した SFE 条件の検討あるいは PLE 法の適用を検討する必要があることがわかった。

また、確立した LC-MS/MS 測定法を用いて、農薬のピーク面積に対する試料マトリックスの影響について検討したところ、影響としては主にピーク面積の減少が観察された。この原因を検討するために、ブランク試験溶液をスキャン測定し、トータルイオンクロマトグラムから得られた夾雑ピークの保持時間とピーク面積が減少した農薬の保持時間とを比較した。その結果、マトリックスの影響を受けた農薬と夾雑ピークの保持時間がほぼ一致したことから、農薬の保持時間付近に溶出される夾雑成分によるイオン化抑制が原因と考えられた。また、同じ SFE 抽出液を LC-MS 測定した場合と GC-MS 測定した場合とでは、そのマトリックス効果は異なるため、適切な測定値を得るためには、LC-MS 測定に適した精製方法を新たに検討する必要があると思われる。

2. GC-MS/MS 測定条件の検討

オキシクロルデンをモデル化合物に用いて、食品中の残留農薬分析に適した MS/MS 条件を求める方法について検討し、以下の手順による方法を開発した。

①対象農薬のマスペクトルから、強度が強かつできるだけ高質量のフラグメントイオンの中から、食品中の夾雑成分の影響を受けにくいイオンをプリカーサーイオンの候補イオンとして選択する。

②各候補プリカーサーイオンについて、ブランク試験溶液のノイズから求めた S/N 比を指標として、候補プロダクトイオンごとにコリジョンエネルギーの最適値を求める。

③②で求めた MS/MS 条件を用いて GC-MS/MS 測定を行い、ブランク試験溶液のノイズから求めた S/N 比を指標として、最適な MS/MS 条件を決定する。

開発した MS/MS 条件の選択法を構造の異なる 28 農薬に適用し、従来の標準品のシグナル強度を指標とした方法と比較した。開発した MS/MS 条件選択法では、ノイズの指標に複数の食品のブランク試験溶液を用いているため、果実、野菜、穀類及び肉類などの食品成分由来の主な夾雑ピーク及びノイズの影響が考慮された結果が得られる。そのため、食品中の残留農薬分析において、妨害を受けにくかつ高感度な条件を得ることができた。また、開発した MS/MS 条件選択法と標準品のシグナル強度を指標とした方法とを比較したところ、両者の結果は大きく異なっていた。装置メーカー等から提供される MS/MS 条件が、標準品のシグナル強度

のみを指標にして求められている場合には、必ずしも食品中の残留農薬分析に最適な MS/MS 条件ではない場合があることが示唆された。

3. LC-TOFMS 測定条件の検討

LC-TOFMS 測定では、測定する分子量範囲により最適な測定条件が異なることから、農薬分析に適した測定条件を求める必要がある。そこで、農薬の分子量範囲の 5 農薬(分子量約 140~870)を用いて、測定条件(コーン電圧、アパーチャー1 電圧及びキャピラリー電圧)の感度に対する影響について検討した。コーン電圧及びキャピラリー電圧については、主に農薬の分子量に依存している傾向が見られた。アパーチャー1 電圧については、分子量に加え構造による影響が大きいことから、分子量が同じであっても、農薬ごとにアパーチャー1 電圧の最適値が異なると考えられた。LC-TOFMS 測定は、個々の化合物ごとにコーン電圧、アパーチャー1 電圧及びキャピラリー電圧を設定することは困難であるため、農薬測定に適した代表的な測定条件を求める必要がある。食品中の残留規制の対象農薬は 600 を超えるため、今回の検討のみでは全ての農薬に最適な測定条件を求めることは困難であった。特に、アパーチャー1 電圧については、農薬の構造によって最適な条件が異なることから、できる限り多くの農薬に適用可能な条件を求めるため、検討農薬数を増やしてより詳細な検討を行う必要があると思われる。

D. 結論

1) LC-MS 測定対象農薬の SFE 法への適用検討

GC-MS 測定が適さない LC-MS 測定対象農薬の SFE 法への適用について検討したところ、log Pow によらず低回収率となる農薬が多くみられたことから、LC-MS 測定対象農薬に適した SFE 条件の検討あるいは PLE 法の適用を検討する必要があることがわかった。LC-MS 測定対象農薬についても、SFE 法あるいは PLE 法による分析が可能になれば、残留農薬分析の一層の迅速化・効率化が可能になり、検査時間の短縮と省力化が期待できるとともに、個人差の低減、分析精度の向上も期待される。また、LC-MS 測定では、GC-MS 測定とは異なるマトリックス効果が認められ、LC-MS 測定に適した精製方法を検討する必要があることがわかった。

2) GC-MS/MS 測定条件の検討

オキシクロルデンをモデル化合物に用いて、

食品中の残留農薬分析に適した MS/MS 条件を求める方法を開発した。開発した MS/MS 条件選択法を様々な種類の 28 農薬に適用し、最適な MS/MS 条件を求めたところ、検討したほとんどの農薬で標準品のシグナル強度を指標とした従来の方法とは異なる結果が得られた。本法は、食品由来の夾雑成分による影響を考慮するために、食品のブランク試験溶液のノイズから求めた S/N 比を指標としているため、シグナル強度を用いた方法よりも、より高い選択性及び感度が期待できることから、食品中の残留農薬分析に適した MS/MS 条件を求めるのに有効な方法と考えられる。

3) LC-TOFMS 測定条件の検討

農薬分析に適した LC-TOFMS 測定条件を求めるために、農薬の分子量範囲の 5 農薬(分子量約 140~870)を用いて、測定パラメーター(コーン電圧、アパーチャー1 電圧及びキャピラリー電圧)の感度に対する影響について検討した結果、最適な測定条件は農薬の分子量や構造に大きく依存していることがわかった。LC-TOFMS 測定では、個々の化合物ごとに測定パラメーターを設定することは困難であるため、農薬測定に適した代表的な測定条件を求める必要がある。しかし、食品中の残留規制対象となる農薬は 600 を超えるため、できる限り多くの農薬に適用可能な測定条件を求めるには、対象農薬数を増やしてより詳細な検討を行う必要があると思われる。

II. 分担研究報告

2. 畜水産食品中残留農薬及び動物用医薬品の包括的分析法の開発

分担研究者 坂井 隆敏

畜水産食品中残留農薬及び動物用医薬品の包括的分析法の開発

分担研究者 坂井 隆敏 国立医薬品食品衛生研究所主任研究官

研究要旨

検査機関におけるより効率的な検査体制の確立を目的として、畜水産食品に基準が設定されている農薬及び動物用医薬品（農薬等）の包括的一斉分析法の開発を検討した。

可能な限り多くの農薬等に適用可能な抽出法について検討を行った後、検討した抽出法を用いて得られた抽出液に対して、多くの農薬等を効果的且つ効率的に精製可能な精製方法の追加を追加し、一斉分析法の開発を試みた。

坂井隆敏・国立医薬品食品衛生研究所
主任研究官

A. 研究目的

平成18年5月29日、食品に残留する農薬、飼料添加物及び動物用医薬品（農薬等）に関するいわゆるポジティブリスト制度が施行された。今日までに農薬について5種類、動物用医薬品について3種類の一斉試験法が通知され、現在各検査機関においては、これら通知試験法を用いた食品中の残留農薬等の検査が実施されている。

一方で、動物用医薬品（動物薬）はもとより、農薬の中にも畜水産食品に基準値が設定されているものがあるため（約300農薬）、畜水産食品については農薬・動物薬の両方を測定しなければならない。しかしながら、現在用いられている一斉試験法は農薬もしくは動物薬のどちらか一方しか測定する事ができず、畜水産食品を検査する場合、現状では農薬試験法と動物薬試験法を用いて2度の検査を行う必要がある。

農薬及び動物薬を一度に分析できる方法が開発されれば、現在それぞれの試験法で2度行われている検査を1度に短縮できる為、より効率的な食品の検査が可能になると考えられる。

本研究では、検査機関におけるより効率的な検査体制の確立を目的として、畜水産食品に基準値が設定されている農薬等を対象として、これらの包括的一斉分析法の開発を試みる。

B. 研究方法

まず、農薬試験法及び動物薬試験法による農薬等の抽出に関する基礎的データの収集を行った。すなわち、水/オクタノール分

配係数対数値（log Pow値）を参考にして選択した農薬29化合物、動物薬25化合物、農薬且つ動物薬として使用される薬品（農薬兼動物薬）18化合物を対象として、既存の通知一斉試験法「LC/MSによる農薬等の一斉試験法（畜水産物）」及び「HPLCによる動物用医薬品の一斉試験法 I（畜水産物）」の抽出操作のみを行い、牛の筋肉及び肝臓試料からの回収率（%）を求めた。実際の操作について、以下に示した。

農薬試験法：試料20.0 gを採り、水20 mLを加えてホモジナイズした後、アセトン及び*n*-ヘキサン（1：2）混液100 mLを加えて更にホモジナイズ後、毎分2500回転で5分間遠心分離を行った。有機層を採り、残留物に*n*-ヘキサン50 mLを加えてホモジナイズ後、遠心分離を行った。得られた有機層を合わせ、40℃以下で減圧乾固した。残留物にアセトニトリル30 mL及びアセトニトリル飽和*n*-ヘキサン20 mLを加えて激しく振とうした後、アセトニトリル層を採った。*n*-ヘキサン層にアセトニトリル20 mLを加えて激しく振とうした後、アセトニトリル層を先に得られたアセトニトリル層と合わせて40℃以下で減圧乾固した。残留物にアセトニトリル及び水（6：4）混液4.0 mLを加えて溶かし、これを試験溶液とした。

動物薬試験法：試料5.0 gを採り、アセトニトリル30 mL、アセトニトリル飽和*n*-ヘキサン20 mL及び無水硫酸ナトリウム10 gを加えてホモジナイズした後、毎分3000回転で5分間遠心分離を行い、有機層を得た。得られた有機層からアセトニトリル層を採り、*n*-ヘキサン層を遠心分離後の残留物に加え、更にアセトニトリル20 mLを加えて激しく振とうした後、遠心分離を行った。アセトニトリル層を採り、先に得られたアセトニトリル層を合わせ、*n*-プロパノール10 mLを加えて40℃以下で減圧乾固し

た。残留物にアセトニトリル及び水（6：4）混液1.0 mLを加えて溶かし、これを試験溶液とした。

得られた試験溶液10 μ LをLC-MS測定に供し、得られたピーク面積から各検討対象化合物の回収率（%）を求めた。なお、両試験法はほとんど抽出操作のみであり、絶対検量線法による定量においては、試料のマトリックス効果によって正確な回収率が求められない場合もあることから、標準添加法及びマトリックス検量線法を用いて定量を行った。

また、アセトニトリル/*n*-ヘキサン分配における各検討対象化合物の*n*-ヘキサン層への分配率を調査した。すなわち、アセトニトリル30 mL及びアセトニトリル飽和*n*-ヘキサン20 mLに検討対象化合物を添加し、激しく振とう及び静置後、アセトニトリル層を除去し、*n*-ヘキサン層にアセトニトリル20 mLを加えて再度激しく振とうした。静置後、*n*-ヘキサン層を採り、40°C以下で減圧乾固した後、得られた残留物にアセトニトリル及び水（6：4）混液1.0 mLを加えて溶かした。この溶液10 μ LをLC-MS測定に供し、検討対象化合物の*n*-ヘキサン層への分配率を求めた。

次に、既存の一斉試験法の抽出操作によって得られた結果を基に改良を加え、幅広い物性を有する農薬等に適用可能な抽出法の確立を試みた。

実際の操作について以下に示した。

農薬試験法の抽出操作の改良：まず、先に記載した農薬試験法の抽出操作を行い、有機層を得た後、これを40°C以下で減圧乾固した。遠心分離後の残留物及び水層にアセトニトリル40 mLを加えてホモジナイズ及び遠心分離を行い、得られたアセトニトリル/水層を、有機層を減圧乾固して得られた残留物に加え、更に*n*-ヘキサン40 mLを加えて激しく振とうした。遠心分離後の残留物にアセトニトリル及び水（7：3）混液100 mLを加えてホモジナイズ及び遠心分離を行い、得られたアセトニトリル/水層を先の分配で得られた*n*-ヘキサン層と合わせ、激しく振とうした。静置後、得られたアセトニトリル/水層を、先のアセトニトリル/水層と合わせ、これに塩化ナトリウム40 gを加えて激しく振とうした。静置後、アセトニトリル層を採り、40°C以下で減圧乾固を行い、得られた残留物をアセトニトリル及び水（6：4）混液4.0 mLに溶かし、これを試験溶液とした。

動物薬試験法の抽出操作の改良：先に記載した動物薬試験法の抽出操作において、アセトニトリルの代わりにアセトニトリル及び水（7：3）混液を用い、それ以外は先

の動物薬試験法の抽出操作と同様の操作を行った。

得られた試験溶液10 μ LをLC-MS測定に供し、得られたピーク面積から各検討対象化合物の回収率（%）を求めた。なお、回収率の算出は、標準添加法及びマトリックス検量線法を用いて行った。

続いて、幅広い物性を有する農薬等に適用可能であると判断して選定した抽出法に対して、基本となる精製操作の追加を試みた。検討対象化合物には、畜水産食品に基準値が設定されている農薬等から、農薬94化合物、動物薬58化合物及び農薬且つ動物薬として使用される薬品（農薬兼動物薬）20化合物、合計172化合物を用いた。

まず、上記172化合物について、水及びアセトン/*n*-ヘキサン混液を用いた抽出における水層への分配率（%）について調査した。すなわち、ガラス製遠心管に検討対象化合物各1 μ g/mL混合標準溶液200 μ Lを採り、水20 mL及びアセトン/*n*-ヘキサン（1：2）混液100 mLを加えて2分間ホモジナイズした後、毎分3,000回転で10分間遠心分離を行った。有機層（上層）を除去し、残った水層（下層）に*n*-ヘキサン50 mLを加えて再度ホモジナイズ及び遠心分離を行い、有機層を除去した。残った水層の1/4容を採り、40°C以下で濃縮して水を除去した後、残留物にアセトニトリル及び水（1：1）混液1.0 mLを加えて溶かし、この10 μ LをLC-MS/MSに注入した。得られた結果より、検討対象化合物の水及びアセトン/*n*-ヘキサン抽出における水層分配率を求めた。

次に、水及びアセトン/*n*-ヘキサン抽出において得られる水層の精製を目的として、ポリマー系のミニカラム（Oasis HLB、充填量500 mg、Waters製）からの検討対象化合物の溶出挙動を調査した。すなわち、水10 mLに検討対象化合物各1 μ g/mL混合標準溶液50 μ Lを添加し、予めアセトニトリル及び水各5 mLを順次通液してコンディショニングしたOasis HLBミニカラムに負荷した。水5 mLを通液してカラムを洗浄後、アセトニトリル及び水混液（3：7）、（4：6）、（5：5）、（6：4）、（7：3）及び（8：3）各10 mLを通液し、溶出液を採った。得られた各溶出液を40°C以下で濃縮して溶媒を除去した後、残留物にアセトニトリル及び水（1：1）混液1.0 mLを加えて溶かし、この10 μ LをLC-MS/MSに注入した。得られた結果から、各検討対象化合物のカラムからの溶出率（%）を求めた。

続いて、以下に示した方法に従って、牛の筋肉及び肝臓試料を対象として添加回収試験を行った。

均一化した試料20.0 gをガラス製遠心管

に量り採り、検討対象化合物各1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合標準溶液200 μL を添加した後、室温で30分間放置した。これに水20 mLを加えて2分間ホモジナイズ後、アセトン及び*n*-ヘキサン(1:2)混液100 mLを加えて更に2分間ホモジナイズした後、毎分3,000回転で10分間遠心分離を行い、有機層を採った。残留物及び水層に*n*-ヘキサン50 mLを加えて2分間ホモジナイズした後、毎分3,000回転で10分間遠心分離を行い、有機層を採り、先に得られた有機層と合わせ、*n*-ヘキサンを用いて定容後、その1/4容を採った。これを40°C以下で濃縮して溶媒を除去した後、残留物にアセトニトリル30 mL及びアセトニトリル飽和*n*-ヘキサン30 mLを加えて10分間激しく振とうし、アセトニトリル層を採った。有機層を採取した後の残留物及び水層にアセトニトリル及び水(7:3)混液50 mLを加えて2分間ホモジナイズした後、毎分3,000回転で10分間遠心分離した。上澄液を採り、アセトニトリルを用いて定容後、その1/4容を採った。これを40°C以下で濃縮して溶媒を除去した後、残留物に水10 mLを加えて溶かし、毎分3,000回転で10分間遠心分離した。得られた上澄液を、予めアセトニトリル及び水各5 mLを順次通液してコンディショニングしたOasis HLBミニカラムに負荷し、水5 mLで洗浄後、アセトニトリル及び水(1:1)混液10 mLで溶出した。この溶出液を、先に得られたアセトニトリル/ヘキサン分配後のアセトニトリル層と合わせ、40°C以下で濃縮して溶媒を除去した後、残留物をアセトニトリル及び水(1:1)混液1.0 mLに溶解し、これを試験溶液とした。検討対象化合物の混合標準溶液及び試験溶液10 μL をLC-MS/MSに注入し、得られたピーク面積から絶対検量線法により各検討対象化合物の回収率(%)を求めた。

また、各検討対象化合物のイオン化に及ぼす試料マトリックスの影響を調査するために、標準溶液、筋肉及び肝臓試料のブランク試験溶液について、ネガティブ及びポジティブイオンモードにおけるプリカーサーイオンスキャン測定(コーン電圧30 V、測定範囲 m/z 100~1000)を行った。

C. 研究結果

まず、既存の一斉試験法の抽出操作において得られた結果について以下に示した。農薬試験法の抽出操作において、農薬及び農薬兼動物薬に関しては、log Pow値1.0以上の場合には比較的良好な回収率が得られた。しかしながら、動物薬に関しては、log Pow値にかかわらずほとんどの化合物が低い回収率であった。一方、動物薬試験法の

抽出操作においては、筋肉試料ではlog Pow値にかかわらず高い回収率が得られた。しかしながら、肝臓試料においては筋肉試料の場合と比較して回収率が低下する傾向が確認された。

また、アセトニトリル/*n*-ヘキサン分配における検討対象化合物の*n*-ヘキサン層への分配率について調べた結果、最も分配率が高かった動物薬メロキシカムにおいても、添加濃度の6%程度であった。

次に、既存の農薬試験法及び動物薬試験法の抽出操作に改良を加え、得られた結果について以下に示した。牛の肝臓試料を対象として検討を行った結果、農薬試験法の抽出操作を改良、すなわち、高極性化合物が分配されていると推察される水層からの抽出を追加することにより、log Pow値1.0以下の高極性化合物についても良好な回収率が得られた。動物薬試験法の抽出操作を改良、すなわち、含水アセトニトリルを用いて抽出を行った場合においても、若干ではあるが回収率の改善が確認された。

続いて、抽出で得られた有機層及び水層それぞれに対して、まずは基本となる精製操作の追加を検討した。

まず、抽出の際における検討対象化合物の水層への分配率(%)について調査した。食品マトリックスが存在しない条件における水層分配率を求めた結果、保持時間が25分よりも遅い化合物については、一部の化合物を除いて水層への分配は認められず、ほとんどが有機層に分配していることが確認された。また、保持時間が25分よりも早い化合物については、保持時間の増加に伴い水層への分配率が低下する傾向が確認された。一方で、一部の検討対象化合物においては、保持時間が早いにもかかわらず水層分配率が低いものや、保持時間は遅いが水層に分配され易いものなども確認された。

実際の精製操作については、以下のように検討を行った。有機層の精製については、種々の分子量の化合物に対して適用可能であると推察され、簡便に脂肪類の除去が可能であると考えられたアセトニトリル/*n*-ヘキサン分配を採用した。また、水層の精製については、多くの化合物に適用可能であると考えられた逆相系のポリマー樹脂ミニカラム(Oasis HLB)を採用することとし、本ミニカラムを用いた精製条件を以下に従い設定した。各比率の溶出液における溶出率及び先の検討で得られた水層分配率を用いて、有機層に分配した検討対象化合物が、アセトニトリル/*n*-ヘキサン分配や濃縮操作における損失が無く、また、測定の際に試料によるマトリックスの影響を受け

ないと仮定した場合の予想回収率を算出した。各溶出液において予想回収率70%以上となる検討対象化合物数を調査した結果、溶出液のアセトニトリル比率の増加に伴い、予想回収率70%以上が得られる検討対象化合物数は増加する傾向にあったが、アセトニトリル及び水（5：5）以上のアセトニトリル比率においては、70%以上の予想回収率が得られる化合物数はほぼ一定であった。以上の結果、ならびにアセトニトリル比率が高い溶出液を用いた場合には、Oasis HLBに保持された低～中極性の夾雑物も検討対象化合物と共に溶出され、精製効果が低下する可能性があることを考慮し、Oasis HLBの溶出には、アセトニトリル及び水（5：5）混液10 mLを用いた。

最後に、構築した分析法を用いて、牛の筋肉及び肝臓試料を対象として、検討対象化合物の添加回収試験を行った。牛の筋肉試料においては、保持時間が20～30分の化合物については比較的良好な回収率（70～120%）が得られた化合物が多かったが、保持時間が20分よりも早い化合物及び保持時間が30分よりも遅い化合物については概ね低い回収率（50%程度）であった。また、牛の肝臓試料においては、化合物の保持時間に関わらず、概ね25～50%と低い回収率であった。また、混合標準溶液、筋肉及び肝臓ブランク試験溶液について、ネガティブ及びポジティブイオンモード（共に、測定範囲m/z 100～1000、コーン電圧30 V）におけるプリカーサーイオンスキュン測定を行った結果、筋肉ブランク試験溶液では、保持時間10～20分の位置にシグナル強度は弱いが多数の夾雑物が、また、保持時間30～40分の位置には極めて強度の高い多数の夾雑物が溶出していることが確認された。肝臓ブランク試験溶液では、広い保持時間範囲においてシグナル強度の高い多数の夾雑物が溶出していることが確認された。

D. 考察

まず、既存の一斉試験法の抽出操作において得られた結果について以下に示した。農薬試験法の抽出操作において、農薬及び農薬兼動物薬に関しては、log Pow値1.0以上の場合には比較的良好な回収率が得られた。しかしながら、動物薬に関しては、log Pow値にかかわらずほとんどの化合物が低い回収率であった。一方、動物薬試験法の抽出操作においては、農薬、農薬兼動物薬及び動物薬にかかわらず、広範囲のlog Pow値の農薬等において高い回収率が得られた。しかしながら、肝臓試料においては回収率が低下する傾向が認められた。回収率の算出は標準添加法もしくはマトリックス

検量線法を用いて行っており、試料マトリックスの影響はほとんど無いものと考えられるため、肝臓試料において回収率の低下が認められた原因としては、検討対象化合物と肝臓試料中の夾雑物との結合や肝臓試料中の酵素などによる分解などが推察された。

また、アセトニトリル/*n*-ヘキサン分配における検討対象化合物の*n*-ヘキサン層への分配率について調べた。その結果、最も分配率が高かった動物薬メロキシカムにおいても添加濃度の6%程度であり、検討対象化合物の大部分はアセトニトリル層に分配していることが確認された。

次に、既存の農薬試験法及び動物薬試験法の抽出操作に改良を加え、得られた結果について以下に示した。牛の肝臓試料を対象として添加回収試験を行い、得られた回収率の中央値（%）を求めたところ、農薬で78%、動物薬で81%、農薬兼動物薬で84%、全検討対象化合物で79%であった。改良を行う前の肝臓試料からの回収率中央値は、農薬で65%、動物薬で4%、農薬兼動物薬で54%、全検討対象化合物で21%であったことから、農薬試験法の抽出操作で得られた水層から更に高極性化合物を抽出することにより、幅広いlog Pow値の農薬等を抽出可能であることが示された。一方、動物薬試験法の抽出操作で含水アセトニトリルを用いた場合、肝臓試料からの回収率中央値は農薬：86%、動物薬：77%、農薬兼動物薬：78%、全農薬等：80%であり、アセトニトリルを用いた場合（農薬：62%、動物薬：72%、農薬兼動物薬：75%、全農薬等：72%）と比較して若干ではあるが回収率の改善が認められた。

農薬試験法及び動物薬試験法の抽出操作を改良することにより得られた肝臓試料における回収率中央値はほとんど同等であり、両法を用いることで幅広いlog Pow値の農薬等を抽出可能であると考えられる。農薬試験法の抽出操作の改良は、有機層の抽出操作までは既存の方法と同様であり、以降、高極性化合物の抽出を目的として水層からの抽出操作を追加したものであるため、実際の検査においても導入し易い方法であると考えられる。一方、動物薬試験法の抽出操作の改良は、抽出溶媒をアセトニトリルから含水アセトニトリルに変更しているため、今回用いた検討対象化合物では確認されなかったが、水を加えたことで抽出液層の極性が高くなり、低極性農薬等は*n*-ヘキサン層に分配し易くなっている可能性があり、加えて、水分含量が高い食品等においては更に抽出液層の極性が高くなるため、低極性農薬等の更なる回収率の低下や

測定値のバラツキなどが危惧される。よって、本研究における抽出法としては、既存の通知試験法として検査機関において実際に用いられており、多くの実績のある農薬試験法をベースとして、水層に移行した高極性農薬等の抽出方法を追加したものを採用することとした。

続いて、選定した上記の抽出法に準じて得られた抽出液の精製操作の検討結果を示した。

まず、抽出の際における検討対象化合物の水層分配率 (%) について調査した。その結果、多くの化合物については、保持時間が25分よりも遅い化合物については水層に分配されず、保持時間が25分よりも早い化合物については、保持時間の増加に伴い水層分配率が低下する傾向が認められた。化合物の官能基や構造等の影響が無い場合には、各化合物のlog Pow値と保持時間には相関があり、また、水層分配率はlog Pow値に依存することから、得られた結果は概ね妥当なものであると考えられた。

次に、抽出において得られた各層に対する精製操作の追加について実際に検討を行った。有機層の精製については、平成19年度の検討において種々の分子量の化合物に対して適用可能であると推察され、簡便且つ迅速に脂肪類を除去可能であると考えられたアセトニトリル/*n*-ヘキサン分配を採用した。水層の精製については、ポリマー系合成樹脂を充填したミニカラム (Oasis HLB) を用いて検討を行うこととし、最適な溶出条件の検討を行った。各溶出液で得られた溶出率及び各検討対象化合物の水層分配率を考慮し、構築した分析法を用いた際の予想回収率 (%) を算出した。予想回収率が70%以上となる検討対象化合物数を調査した結果、溶出液のアセトニトリル比率の増加に伴い、予想回収率70%以上の検討対象化合物数も増加したが、アセトニトリル及び水 (5:5) 以上のアセトニトリル比率においては、予想回収率70%以上の化合物数はほぼ一定となった。溶出液のアセトニトリル比率が低い程精製効果は高いと考えられることから、溶出液にはアセトニトリル及び水 (5:5) 混液を用いることとした。以上の検討結果から、水層の精製操作は、抽出操作で得られた水層の溶媒置換を行い、Oasis HLBに負荷及び水5 mLで洗浄を行った後、アセトニトリル及び水 (5:5) 混液10 mLで溶出する操作とした。

最後に、精製操作を追加して構築した分析法を用いて、牛の筋肉及び肝臓試料を対象として添加回収試験を行った。牛の筋肉試料においては、保持時間が20~30分の化合物については比較的良好な回収率 (70~

120%) が得られたが、保持時間が20分よりも早い化合物及び保持時間が30分よりも遅い化合物については概ね50%程度の低い回収率であった。また、牛の肝臓試料においては、化合物の保持時間に関わらず、概ね25~60%と低い回収率であった。

混合標準溶液、筋肉及び肝臓ブランク試験溶液をプリカーサーイオンスクリーン測定に供したところ、筋肉ブランク試験溶液では、保持時間10~20分の位置にシグナル強度は弱いが多数の夾雑物が、また、保持時間30~40分の位置には極めて強度の高い多数の夾雑物が溶出していることが確認された。また、肝臓ブランク試料においては、広い保持時間範囲においてシグナル強度の高い多数の夾雑物が溶出していることが確認された。これら試料由来の夾雑物の分析カラムからの溶出時間 (保持時間) は、添加回収試験において回収率が低かった化合物の保持時間と概ね一致していた。このことから、本研究で検討を行った精製操作では除去できなかった試料由来夾雑物が検討対象化合物と共に分析カラムから溶出し、質量分析におけるイオン化の際に検討対象化合物のイオン化を阻害することにより、絶対検量線法による回収率が実際の回収率よりも低く算出されている可能性があることが推察された。

E. 結論

検査機関におけるより効率的な検査体制の確立を目的として、畜水産食品に基準が設定されている農薬等の包括的一斉分析法の開発を検討した。

まず、多くの農薬等に適用可能な抽出方法の構築するために、既存の一斉試験法の抽出操作による検討対象化合物の回収率を求めた。農薬試験法、すなわち、水、アセトン及び*n*-ヘキサンを用いた抽出においては、log Pow値1.0以上の農薬及び農薬兼動物薬に対しては比較的良好な回収率が得られ、筋肉及び肝臓試料において同様の回収率が得られた。しかしながら、動物薬に対してはlog Pow値にかかわらず低い回収率となった。一方、動物薬試験法、すなわち、アセトニトリル及び*n*-ヘキサンを用いた抽出においては、筋肉試料では広範囲のlog Pow値の検討対象化合物において良好な回収率が得られた。しかしながら、肝臓試料においては回収率が低下する傾向が確認された。

以上の結果から得られた知見をもとに、農薬及び動物薬試験法の抽出操作の改良を試みた。農薬試験法の抽出操作の改良は、既存の試験法通りに水、アセトン及び*n*-ヘキサンを用いて低~中極性農薬等を抽出し

た後、水層から中～高極性農薬等を更に抽出する方法とした。動物薬試験法の抽出操作の改良は、抽出溶媒として用いられているアセトニトリルの代わりに含水アセトニトリルを用いて抽出を行う方法とした。これらの改良抽出法を用いることで、多くの農薬等の抽出に適用可能であると推察されたが、検査機関などにおける使用実績等を考慮して、抽出法としては農薬試験法をベースとした改法を選択し、以降得られた抽出液に対する精製操作の追加を図った。

抽出操作において得られる有機層については、脂肪類の除去を目的としてアセトニトリル/*n*-ヘキサン分配を追加し、水層については、低～中極性夾雑物の除去を目的としてOasis HLBミニカラムを用いた精製を追加した。構築した分析法を用いて添加回収試験を行った結果、筋肉試料においては、試料由来夾雑物の溶出が少ない保持時間20～30分の化合物については比較的良好な回収率(70～120%)が得られたが、それ以外の保持時間の化合物は概ね50%程度の低回収率となった。また、肝臓試料においては、保持時間に関わらずほとんどの化合物が25～60%と低い回収率であった。以上の結果から、本研究で追加した精製操作では試料由来の夾雑物の除去が不十分であるため、多くの検討対象化合物のイオン化を阻害し、絶対検量線法による検討対象化合物の回収率を低下させていることが推察された。

したがって、本研究で検討した分析法を用いることにより、幅広い物性を有する農薬等を畜水産食品から効率的に抽出することが可能であるが、絶対検量線法を用いて定量を行うためには、本研究で検討した基本の精製操作に加えて、試料由来の夾雑物、特に肝臓試料由来の夾雑物等を効果的且つ効率的に除去し得る精製操作の追加が必須であることが示された。

II. 分担研究報告

3. 農産物中残留農薬のGC・LC併用による残留実態解析

分担研究者 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19－21年度総合研究報告書

農産物中残留農薬のGC・LC併用による残留実態解析

分担研究者 米谷民雄 静岡県立大学・食品栄養科学部 客員教授

研究要旨

農産物中の残留農薬として、どれくらいの種類の農薬が残留しているかのデータを、GCおよびLCを併用して収集することを目的とした。同一農産物について異なる地域・業者からの3製品の混合試料を作成し、GC/MSおよびLC/MSによる一斉試験法を用いて、429成分（茶の場合は378成分）の残留農薬分析を実施した。

19年度の中国産（5作物）と国産（20作物）の農産物の分析では、定量限界（0.01 ppm）未満でも確実に検出されたものを含めると、25混合試料の平均で、1試料当たり3種の農薬が検出された。また、中国産と国産での検出農薬数には差はなかった。混合試料のため個別製品と比べ濃度が1/3になり、検出できなくなった農薬がある可能性がある一方、異なる3地域の製品で違った農薬が残留している場合には、同時に検出されてくる可能性がある。検出された残留農薬の数が限られていることから、少なくとも国産品について分析する場合には、使用した農薬の情報を入手し、的確に分析することが重要と考えられた。

20年度は、茶試料について茶葉と熱湯抽出液の分析、ポストハーベスト農薬（国内では食品添加物）の使用が考えられる果実の分析、果皮も含めて基準値が設定されているため農薬が検出される可能性が高いと考えられる果実の分析、食品加工による農薬の消長を調査する際の対象食品を選択する目的での農産物－加工食品の組み合わせについての分析を実施した。その結果、茶葉では生産県別に3試料を作成したが、茶葉中の残留農薬は熱湯抽出時にはあまり移行してこないことが再確認された。抗菌剤（ポストハーベスト農薬）の使用が考えられた輸入かんきつ類（オレンジ、グレープフルーツ、レモン）では、イマザリル等の使用が確認された。また、食品加工時の残留農薬の消長を調べる際には、豆腐および関連食品が現実的な候補になると考えられた。加工食品中からも農薬が検出されたが、原材料に戻って適否を判定するためには、加工係数を調査しておく必要性が再認識された。

21年度は緑茶や玉露などのツバキ科チャ製品および他の植物からの茶の製品を対象とし、茶葉および熱湯抽出液について分析を行った。茶葉と熱湯抽出液の両方で検出された農薬については、熱湯中への移行比率に大きな差が見られた。茶製品の調査により、加工食品中から検出された農薬につき原材料に戻って適否を判定するための加工係数の必要性や、茶製品に統一的に適用できる一斉試験法の必要性、ツバキ科チャ以外の茶の食品分類の重要性が再認識された。