

表1 遺伝子組換えコメ陽性コントロールプラスミド(水段階希釈)におけるリアルタイムPCRモード間の比較

ランモード		9600 emilation mode				Standard mode				モード間差 (E)-(S)
遺伝子名	コピー数 ^a	Ct値 平均 (E)	SD	増幅数 ^b	陽性数 ^c	Ct値 平均 (S)	SD	増幅数	陽性数	
PLD	40	35.53	0.32	6/6	6/6	35.69	0.30	6/6	6/6	-0.16
	20	36.53	0.37	6/6	6/6	36.69	0.41	6/6	6/6	-0.16
	15	36.98	0.52	6/6	6/6	37.71	0.97	6/6	6/6	-0.73
	10	38.60	0.96	6/6	6/6	37.51	0.64	6/6	6/6	1.09
	5	38.97	1.19	6/6	6/6	38.60	0.99	5/6	5/6	0.37
	2.5	38.68	0.60	3/6	3/6	39.30	0.93	4/6	4/6	-0.62
CpII	40	36.83	0.32	6/6	6/6	37.05	0.41	6/6	6/6	-0.22
	20	37.89	0.44	6/6	6/6	38.36	0.25	6/6	6/6	-0.47
	15	39.00	0.52	6/6	6/6	38.48	0.60	6/6	6/6	0.52
	10	38.96	0.50	6/6	6/6	40.10	0.79	6/6	6/6	-1.14
	5	40.35	1.00	6/6	6/6	40.25	0.94	5/6	5/6	0.10
	2.5	41.41	0.42	5/6	5/6	40.99	0.69	5/6	5/6	0.42
63Bt	40	34.82	0.50	6/6	6/6	35.59	0.48	6/6	6/6	-0.77
	20	36.19	0.12	6/6	6/6	36.99	0.58	6/6	6/6	-0.80
	15	37.28	0.30	6/6	6/6	37.12	0.92	6/6	6/6	0.16
	10	37.48	0.74	6/6	6/6	38.18	0.83	6/6	6/6	-0.70
	5	38.47	0.50	6/6	6/6	38.42	0.76	6/6	6/6	0.05
	2.5	38.50	0.62	4/6	4/6	39.18	0.58	4/6	4/6	-0.68
NNBt	40	35.43	0.40	6/6	6/6	36.11	0.34	6/6	6/6	-0.68
	20	36.97	0.89	6/6	6/6	37.65	0.81	6/6	6/6	-0.68
	15	38.05	0.57	6/6	6/6	38.09	0.29	6/6	6/6	-0.04
	10	38.21	0.84	6/6	6/6	38.37	1.15	6/6	6/6	-0.16
	5	39.23	0.68	5/6	5/6	39.97	0.26	4/6	4/6	-0.74
	2.5	40.23	1.20	5/6	5/6	39.35	0.90	4/6	4/6	0.88

GMコメ害虫抵抗性検査用 陽性コントロールプラスミド(ニッポンジーン)を水で段階希釈した溶液を鋳型として、通知法に従ってリアルタイムPCRを実施した。測定は各濃度n=6で測定した。Ct値平均はベースラインを3から15に、Threshold lineを0.2に設定して得られたCt値を平均して算出した。

a 1ウェル当たりのコピー数

b マルチコンポーネント上で指数関数的増幅が確認できたウェル数/測定数

c 48未満のCt値が得られたウェル数/測定数

表2 遺伝子組換えコメ陽性コントロールプラスミド(コメDNA段階希釈)におけるリアルタイムPCRモード間の比較

ランモード	9600 emilation mode					Standard mode				モード間差 (E)-(S)	
	遺伝子名	コピー数 ^a	Ct値 平均 (E)	SD	増幅数 ^b	陽性数 ^c	Ct値 平均 (S)	SD	増幅数 ^b		陽性数 ^c
CpTI		40	37.23	0.30	6/6	6/6	37.98	0.37	6/6	6/6	-0.75
		20	38.38	0.52	6/6	6/6	39.06	0.90	6/6	6/6	-0.68
		15	38.53	0.37	6/6	6/6	38.82	0.57	6/6	6/6	-0.29
		10	39.16	0.79	6/6	6/6	39.88	0.88	6/6	6/6	-0.72
		5	40.01	0.70	6/6	6/6	40.25	0.66	6/6	6/6	-0.24
		2.5	40.67	0.68	6/6	6/6	41.60	0.79	6/6	6/6	-0.93
63Bt		40	35.13	0.63	6/6	6/6	35.47	0.41	6/6	6/6	-0.34
		20	36.10	0.68	6/6	6/6	36.13	0.60	6/6	6/6	-0.03
		15	36.39	0.57	6/6	6/6	36.67	0.37	6/6	6/6	-0.28
		10	37.13	0.74	6/6	6/6	36.99	0.58	6/6	6/6	0.14
		5	39.07	1.43	6/6	6/6	38.24	0.52	5/6	5/6	0.83
		2.5	38.78	0.93	4/6	4/6	39.27	0.69	4/6	4/6	-0.49
NNBt		40	35.37	0.25	6/6	6/6	36.10	0.67	6/6	6/6	-0.73
		20	36.15	0.44	6/6	6/6	37.05	0.68	6/6	6/6	-0.90
		15	36.92	0.52	6/6	6/6	37.48	0.69	6/6	6/6	-0.56
		10	38.02	1.43	6/6	6/6	37.66	0.48	6/6	6/6	0.36
		5	38.79	1.27	6/6	6/6	39.33	0.84	6/6	6/6	-0.54
		2.5	39.56	0.98	5/6	5/6	39.25	0.73	5/6	5/6	0.31

GMコメ 害虫抵抗性検査用 陽性コントロールプラスミド(ニッポンジーン)を非遺伝子組換えコメから抽出したDNAで段階希釈した溶液を鋳型として、通知法に従ってリアルタイムPCRを実施した。測定は各濃度n=6で測定した。Ct値平均はベースラインを3から15に、Threshold lineを0.2に設定して得られたCt値を平均して算出した。

a 1ウェル当たりのコピー数

b マルチコンポーネント上で指数関数的増幅が確認できたウェル数/測定数

c 48未満のCt値が得られたウェル数/測定数

表3 GMパイヤ系統別DNA PRSV陽性コントロールプラスミド(水段階希釈)におけるリアルタイムPCRモード間の比較

ランモード		9600 emilation mode				Standard mode				モード間差 (E)-(S)
遺伝子名	コピー数 ^a	Ct値 平均 (E)	SD	増幅数 ^b	陽性数 ^c	Ct値 平均 (S)	SD	増幅数	陽性数	
Chy	40	34.21	0.42	6/6	6/6	33.65	0.33	6/6	6/6	0.56
	20	34.72	0.25	6/6	6/6	34.38	0.15	6/6	6/6	0.34
	10	36.52	0.65	6/6	6/6	36.12	0.25	6/6	6/6	0.40
	5	37.80	0.80	6/6	6/6	37.13	0.45	6/6	6/6	0.67
	2.5	38.82	0.69	6/6	6/6	38.50	0.54	6/6	6/6	0.32
	1.25	39.44	1.03	6/6	6/6	39.08	0.51	6/6	6/6	0.36
CaM	40	34.53	0.24	6/6	6/6	33.96	0.08	6/6	6/6	0.57
	20	35.64	0.22	6/6	6/6	35.16	0.42	6/6	6/6	0.48
	10	36.65	0.32	6/6	6/6	36.48	0.54	6/6	6/6	0.17
	5	38.06	0.82	6/6	6/6	37.51	0.57	6/6	6/6	0.55
	2.5	38.96	0.64	6/6	6/6	38.63	0.66	6/6	6/6	0.33
	1.25	39.78	0.63	6/6	6/6	40.68	1.16	4/6	4/6	-0.90
PRSV-YK	40	37.10	0.79	6/6	6/6	36.52	0.83	6/6	6/6	0.58
	20	39.05	0.55	6/6	6/6	38.75	0.19	6/6	6/6	0.30
	10	39.16	0.93	6/6	6/6	38.65	0.67	6/6	6/6	0.51
	5	40.82	0.60	6/6	6/6	40.59	0.45	6/6	6/6	0.23
	2.5	41.33	1.56	6/6	6/6	40.59	0.89	6/6	6/6	0.74
	1.25	42.20	0.91	5/6	4/6	42.38	1.26	5/6	3/6	-0.18
PRSV-SC	40	34.82	0.41	6/6	6/6	34.20	0.27	6/6	6/6	0.62
	20	36.15	0.26	6/6	6/6	35.80	0.20	6/6	6/6	0.35
	10	36.76	0.47	6/6	6/6	36.71	0.24	6/6	6/6	0.05
	5	38.42	0.61	6/6	6/6	37.75	0.63	6/6	6/6	0.67
	2.5	39.40	0.78	6/6	6/6	39.01	0.53	6/6	6/6	0.39
	1.25	40.05	1.00	6/6	6/6	39.94	0.80	6/6	6/6	0.11

GMパイヤ系統別DNA PRSV陽性コントロールプラスミド(ニッポンジーン)を水で段階希釈した溶液を鋳型として、通知法に従ってリアルタイムPCRを実施した。測定は各濃度n=6で測定した。Ct値平均はベースラインを3から15に、Threshold lineを0.2に設定して得られたCt値を平均して算出した。

a 1ウェル当たりのコピー数

b マルチコンポーネント上で指数関数的増幅が確認できたウェル数/測定数

c 43未満のCt値が得られたウェル数/測定数

表 4 異なるランモードにおける遺伝子の増幅効率

ランモード		9600 emilation mode	Standard mode	モード間差 (E)-(S)
遺伝子名	希釈液	増幅効率 (E)	増幅効率 (S)	
PLD	水	0.77	1.02	-0.25
CpTI		0.82	0.84	-0.02
63Bt		0.81	1.03	-0.23
NNBt		0.73	0.74	-0.01
CpTI	DNA	1.10	1.27	-0.17
63Bt		0.71	1.15	-0.44
NNBt		0.84	0.95	-0.11
Chy	水	0.76	0.75	0.01
CaM		0.85	0.82	0.03
PRSV-YK		0.92	0.92	0.00
PRSV-SC		0.82	0.84	-0.02

リアルタイムPCR結果についてAutomatic Ct解析を行い、遺伝子ごとの増幅効率を算出した。
 (増幅効率 $e = 10^{-1/\text{slop}} - 1$)

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)

検査機関の信頼性確保に関する研究

平成 25 年度

研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

誌上発表

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
尾花裕孝： 福井直樹、高取聡、 北川陽子、起橋雅浩、 梶村計志、 <u>尾花裕孝</u>	加工食品材料中における残留農薬 濃度の推定の試み	<i>食品衛生学雑誌</i>	54	392-396	2013
福井直樹、高取聡、 北川陽子、起橋雅浩、 梶村計志、 <u>尾花裕孝</u>	LC-MS/MS による農産物を主原料と した加工食品中の残留農薬一斉分 析法の検討	<i>食品衛生学雑誌</i>	54	426-433	2013
Kitagawa Y., Okihashi M., Takatori S., Kajimura K., <u>Obana</u> H., Furuta M., Nishiyama T.	A Rapid and Simple Method for the Determination of 2-Alkylcyclobutanones in Irradiated Meat and Processed Foods	<i>Food Analytical Methods</i>	7	1066-1072	2014
渡辺卓穂： 笠間菊子、小熊恭 代、穂山浩、鈴木 達也、 <u>渡辺卓穂</u> 、 小島幸一	ダイズおよびトウモロコシ抽 出 DNA の精製度の検討	日本食品化学学 会誌	20(3)	203-208	2013
<u>渡辺卓穂</u>	食品添加物検査の外部精度管理調 査について(平成25年5月 第105 回 日本食品衛生学会学術講演会 シンポジウム ―食品中の食品添 加物分析の現状と課題―)	<i>食品衛生学雑誌</i>	55(1)	J-10-J-14	2014

学会発表

発表者氏名	タイトル名	発表学会名	出版年
尾花裕孝： 北川陽子、起橋雅浩、高取 聡、梶村計志、 <u>尾花裕孝</u> 、	簡易分析法による照射生レバー中 2-アルキルシクロブタノンの測定	第 105 回日本食品衛生学会学術講 演会 (東京)	2013

西山利正、古田雅一			
起橋雅浩、北川陽子、高取聡、梶村計志、尾花裕孝、古田雅一	照射試料を用いた 2-アルキルシクロブタノン測定における技能試験	第 105 回日本食品衛生学会学術講演会 (東京)	2013
北川陽子、起橋雅浩、福井直樹、高取聡、梶村計志、尾花裕孝、西山利正、古田雅一	2-アルキルシクロブタノンを指標とした食品の照射履歴の簡易分析法の検討	第 49 回日本食品照射研究協議会 (東京)	2013
齊藤貢一： 高橋拓海、岩崎雄介、伊藤里恵、齊藤貢一：第57回日本薬学会関東支部大会，東京，2013	ELISA およびGC/MS法によるビール中に残留するデオキシニバレノール分析法の検討	第 57 回 日本薬学会関東支部大会 (東京)	2013
村山三徳： 村山三徳	日本の動物用医薬品の法制度と求められる安全対策	青島誠誉食品検測有限公司・食品安全セミナー	2013
鎗田孝： 鎗田孝、青柳嘉枝、大竹貴光、沼田雅彦、高津章子	農薬が残留した大豆粉末を試験試料とした技能試験	第 36 回農薬残留分析研究会 (秋田)	2013
鎗田孝、大竹貴光、青柳嘉枝、黒田陽子、沼田雅彦、岩田仁、渡井正俊、光田均、藤川敬、太田秀和	残留農薬分析用大豆粉末標準物質の開発	日本食品衛生学会第 106 回学術講演会 (沖縄)	2013
渡辺卓穂： 渡辺卓穂、高坂典子、鈴木達也、小島幸一	食品衛生外部精度管理用調査のための残留動物用医薬品調査試料の作製検討について	日本食品化学学会第 19 回総会・学術大会 (名古屋)	2013
安達玲子	アレルギー物質を含む食品の表示と検査法に関する動向	日本食品免疫学会第 8 回宿泊セミナー (東京)	2013
Shinobu Sakai, Reiko Adachi, Shigeki Kato, Ayako Kato, Masanobu, Akimoto, Hiroshi Akiyama, Atsuo Urisu, Reiko Teshima	An Interlaboratory Study of the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Determination of Allergenic Kiwifruit Protein in Processed Foods	127th AOAC Annual Meeting & Exposition	2013

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)

検査機関の信頼性確保に関する研究

平成 25 年度

研究成果の刊行物・別刷

論文発表

報文

加工食品原材料中における残留農薬濃度の推定の試み

(平成25年5月31日受理)

福井直樹* 高取 聡 北川陽子
起橋雅浩 梶村計志 尾花裕孝

Trial for Estimating the Concentration of Pesticide Residues
in the Ingredients of Processed Foods

Naoki FUKUI*, Satoshi TAKATORI, Yoko KITAGAWA, Masahiro OKHASHI,
Keiji KAJIMURA and Hiroataka OBANA

Osaka Prefectural Institute of Public Health: 1-3-69 Nakamichi,
Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan;

*Corresponding author

If pesticide residues are detected at over the uniform limit (0.01 ppm) in processed foods, the maximum residue limits of pesticides in each ingredient should be considered. For that purpose, analysis of pesticide residues in the ingredients would be required, but in many cases it is difficult to obtain ingredients from the same lot, or the processed foods may have been manufactured overseas. Thus, a means of estimating pesticide concentrations in ingredients before processing would be important. In this study, we estimated the concentration of paclobutrazol, which was detected in LM pickles (LMPs), that would have been present in Takana (LM; mustard leaf) before processing. The LMPs mainly consisted of LM and seasoning liquid (SL), and other ingredients (sesame seeds or red pepper) accounted for less than 0.2% (w/w) of the LMPs. The LM and SL were separated and their paclobutrazol concentrations were determined. The concentration of paclobutrazol in the SL was approximately 1/10 of that detected in LM. Loss of water from LM during processing was taken into account to calculate the content of paclobutrazol in LM before processing, based on the analytical result of processed LM.

(Received May 31, 2013)

Key words: 加工食品 processed food; 残留農薬 pesticide residue; 原材料 ingredient; 残留基準 MRL; 加工係数 processing factor

緒言

食品衛生法の改正により平成18年5月からポジティブリスト制度が施行された。これにより加工食品の残留農薬基準は、個別に基準が設定されているトマトジュースや小麦粉等、一部の加工食品を除いて、原則一律基準値(0.01 ppm)が適用される。ただし一律基準値を超えた場合でも、加工食品の原材料がそれぞれの基準値に適合すれば、当該加工食品も基準に適合するとみなされる^{*1}。同時に、加工食品が一律基準値を超えなかった場合でも、当

該加工食品の製造に基準を超えた原材料を使用してはならないことも同法で規定されている。

基準適合性を判断する方法として、次の①および②が考えられた。

①加工に使用された原材料を分析して判断する。

②加工食品を原材料ごとに分別し、残留する農薬を分析するとともに、原材料の組成や加工係数等を考慮し、合理的な根拠に基づいて推定された原材料の残留値(生鮮品への換算濃度)を考慮して判断する。

筆者らは、既報¹⁾において、加工食品のスクリーニング調査を行った結果、2種類の漬け物から一律基準値を超えてパクロブトラゾール(トリアゾール系植物成長調整剤)が検出されたことを報告した。これらの漬け物は複数の原材料から構成されていた。これら漬け物は海外で製造されたため、原材料を入手することが困難であり、上述した①の方法により基準適合性を判断できなかった。そこ

* 連絡先 fukui@iph.pref.osaka.jp
大阪府立公衆衛生研究所: 〒537-0025 大阪市東成区中道1-3-69

*1 「食品衛生法等の一部を改正する法律による改正後の食品衛生法第11条第3項の施行に伴う関係法令の整備について」(平成17年11月29日付け食安発第1129001号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知)

で、②の方法により、当該漬物の原材料の残留値の推定を試みた。なお、国内製造品であっても、原材料の入手が困難な場合が多いことが予測される。その理由としては、製造から日時が経過しているため、加工食品の製造に使用した原材料を保管していないことなどの時間的な問題が挙げられる。

これまで加工食品中の残留農薬にかかるさまざまな分析法が開発されている^{2)~5)}。これらは基準適合性の判断について、製品として一律基準値を適用することを考慮しているため、原材料に選った基準適合性の判断手法について述べられていない。

また、加工食品の試料全体を対象とした残留農薬実態調査により、一律基準値を超えて農薬が検出されたジャムや漬け物があったことについて報告されている⁶⁾。しかし、基準適合性を判断するために、原材料ごとに分析されておらず、その残留値も推定されていない。

本報では、過去に加工食品全体を試料として分析を行い、一律基準値を超えて農薬が検出された2種類の漬け物を用いて検証した。これらの同一ロット品を新たに入手し、各原材料の農薬濃度、組成率および加工係数を求めた。さらに、これらの値から、原材料における農薬濃度の推定を試み、基準適合性の判断に適用することが可能な手法の一例を考案したので報告する。

実験方法

試薬、機器、実験操作は既報¹⁾に準じた。LC-MS/MSの測定条件は既報^{7),8)}に準じた。

1. 試料

既報¹⁾において、バクロトラゾールが食品衛生法の一貫基準値を超えて検出されたごま入りの高菜漬け（以下高菜漬けA）および唐辛子入りの高菜漬け（以下高菜漬けB）について、同一ロット品を追加で購入した。追加で購入したごま入りの高菜漬け（以下高菜漬けAp）および唐辛子入りの高菜漬け（以下高菜漬けBp）を原材料に分別した。

2. 原材料の分別

高菜漬けApを高菜、漬け汁およびごまの種子に、高菜漬けBpを高菜、漬け汁および唐辛子に分別し、重量構成比を算出した。始めに、高菜から、ごまの種子または唐辛子をピンセットで取り除いた。次に、高菜をあらかじめ風袋測定したメスシリンダー上部に設置したガラスロートに3分間静置して、高菜から漬け汁を除いた。最後に、分別後の各原材料について、重量を測定し、重量構成比を算出した。

結果および考察

1. 原材料の残留値推定手順の考案

個別に残留基準が定められていない加工食品の試料全体を対象とした分析において、一律基準値を超えた場合、基準適合性を判断するには、原材料の残留値を考慮すること

が望ましい。原材料の残留値は、加工食品製造所等において、加工前の原材料を個別に分析すれば得られるが、加工済みの原材料を分析した場合、加工係数等を用いて補正する必要がある。さらに加工前の原材料を個別に分析すること自体が困難な事態も想定されるため、加工食品中の原材料の残留値を合理的に推定することが重要となる。

個別に基準が設定されておらず、一律基準値が適用される加工食品について、原材料の残留値を推定するための手順を考案した（Scheme 1）。加工食品には、単一の原材料で構成された食品と複数の原材料で構成された食品がある。

単一の原材料で構成された加工食品中の原材料の残留値は、次の2段階の手順に従って推定される。

(Step 1.1) 原材料の加工係数（濃縮率や希釈率等）の算出

(Step 1.2) 生鮮換算値（生鮮農産物に加工を施さない生鮮状態での残留値）の算定

得られた推定値について、原材料に設定された個別の基準値と比較する。

一方、複数の原材料で構成された加工食品中の原材料の残留値は、次の5段階の手順に従って推定される。

(Step 2.1) 原材料ごとの分別

(Step 2.2) 分別した原材料の分析

(Step 2.3) 加工係数（濃縮率や希釈率等）の算出

(Step 2.4) 生鮮換算値の算定

(Step 2.5) 原材料間での農薬の移行の検証

得られた推定値について、原材料に設定された個別の基準値と比較する。

2. 試料全体を対象とした漬け物の分析結果

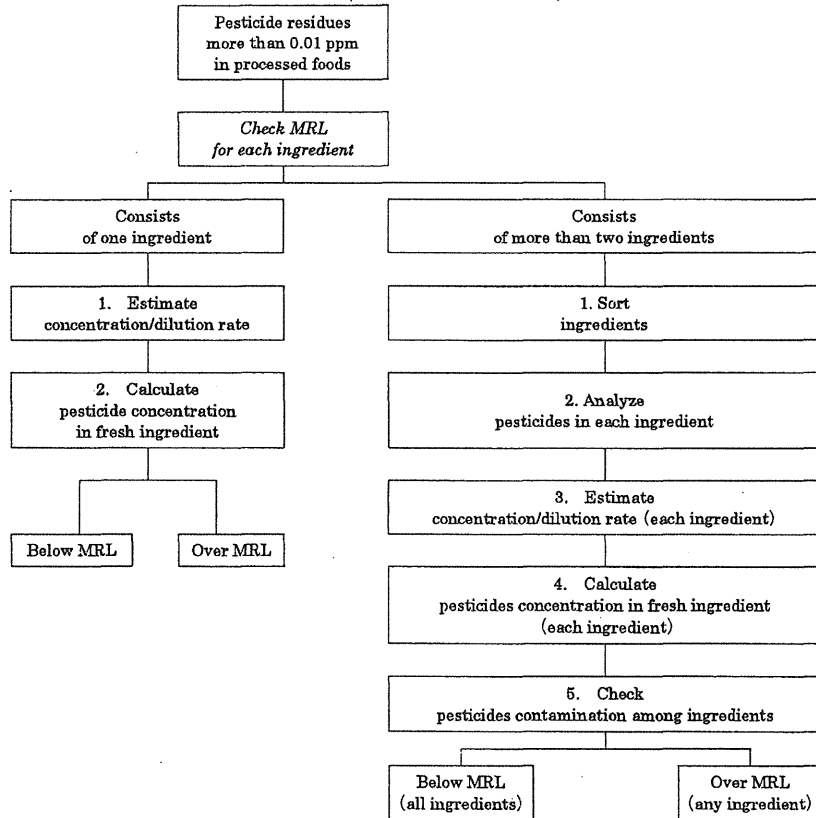
既報¹⁾の試料において、バクロトラゾールが一律基準値を超えて検出された（高菜漬けA, 0.18 ppm; 高菜漬けB, 0.04 ppm）。これらの漬け物は、内容量が500gであり、漬け汁、酸味料、保存料および着色料等の食品添加物を除いて、2種類の農産物から構成されていた（高菜漬けAは高菜とごまの種子、高菜漬けBは高菜と唐辛子）。

高菜漬けは加工食品として個別の残留基準値が設定されていない。高菜漬けを構成する原材料の農産物について、食品衛生法上の食品分類は、高菜が「その他のあぶらな科野菜」、ごまの種子が「ごまの種子」、唐辛子が「その他のなす科野菜」に分類される。これら3種類の農産物には、バクロトラゾールの基準値が個別に設定されていない。このため、すべて一律基準値が適用される。したがって、検出されたバクロトラゾールが高菜、ごまの種子、唐辛子のいずれに起因しても原材料として基準値を超えることが推測された。次に、考案したScheme 1に基づいて原材料の残留値を推定した。

3. 原材料ごとの分別

既報¹⁾で分析に供した試料は、試料全体を対象とした分析により均一化したため、同一ロット品を追加で購入して検討した。

高菜漬けを原材料ごとに分別した。高菜漬けApおよび



Scheme 1. Decision process for pesticide residues in processed foods without set MRL.

高菜漬けBpについて、各原材料の全体に占める割合（以下組成率X）を算出するために、高菜、ごまの種子、唐辛子、漬け汁に分別し重量を測定した（Table 1）。ごまの種子および唐辛子の製品全体に対する割合は、それぞれ0.2%および0.1%であった。

4. 原材料ごとの分析

分別した原材料の高菜と漬け汁のバクロブトラゾールを分析した結果、高菜漬けApでは、高菜が0.10 ppm、漬け汁が0.01 ppmであった。また、高菜漬けBpでは、高菜が0.23 ppm、漬け汁が0.02 ppmであった。高菜漬けApの高菜のバクロブトラゾール濃度は、高菜漬けAの試料全体の濃度（0.18 ppm）と比較して低い。逆に、高菜漬けBpの高菜のバクロブトラゾール濃度は、高菜漬けBの試料全体の濃度（0.04 ppm）と比較して高い。これらは、それぞれ同一ロットであるため、ロット内においてもバクロブトラゾール濃度に差があるものと考えられた。

ごまの種子および唐辛子は、重量が0.9 gおよび0.4 gであり、必要とする定量下限が得られる分析ができないと考

えて、バクロブトラゾールの分析は行わなかった。仮に検出した農薬が、組成率が低いこれらの原材料に由来すると考えた場合、試料全体の分析結果（高菜漬けA、0.18 ppm；高菜漬けB、0.04 ppm）を組成率で換算することにより得られる。その結果、バクロブトラゾールはごまの種子中で90 ppm、唐辛子中で40 ppmと算定され、原材料として基準値を超えることは明らかである。

例えば複数の原材料が、互いに近い割合で存在する製品やそれぞれの原材料の基準値が異なる場合は、本研究のように単純化は困難である。これら複数の原材料を分別して農薬を分析し、原材料間での農薬の移行を検討する必要があると思われる。

5. 加工係数の算出

漬け物製造過程では、生鮮農産物の水分が外にしみ出して減少する。本報告では、この水分減少を加工係数に反映させた。

高菜漬けの加工係数を算出するために日本食品成分表⁹⁾を引用した（Table 2）。可食部100 g当たりの重量から、

Table 1. Components of takana pickles

Takana pickles	Component (% w/w)			
	Takana	Sesame seeds	Red pepper	Liquid seasoning
A	74.20	0.15	NA ^{a)}	25.65
B	70.52	NA ^{a)}	0.07	29.41

^{a)} Not applicable.

Table 2. Composition of takana and takana pickles

Takana	Component (% w/w)		
	Water ^{a)}	NaCl ^{a)}	Takana without water and NaCl
Fresh (intact)	92.7	0.1	7.2
Processed (pickled)	83.5	5.8	10.7
Ratio of concentration	1.5		

^{a)} Cited from ref. 9.

水分と食塩相当量を減算して高菜の正味重量を計算した。高菜は高菜漬けに加工され水分が減少し、加工係数は1.5と算出された。

6. 生鮮換算値の算定

既報¹⁾において、試料全体を均一化して分析した試料(高菜漬けAおよび高菜漬けB)について、原材料の高菜に残留するバクトロゾール濃度を推定した。高菜漬けAおよび高菜漬けBは、ともに農産物2種類および漬け汁を合わせて3種類の原材料が混在している。加工食品中において各原材料間で農薬の移行がない(加工食品製造時において、各原材料にもともと含まれていた農薬が、分析時にもそのまま維持されている)と仮定した場合、これら3種類の混在した加工食品のモデル式(1)~(3)を次に示した。ここで3種類の原材料について、高菜を α 、ごまの種子または唐辛子を β 、漬け汁を γ とする。それぞれの原材料について、組成率 X_α , X_β , X_γ (推定に用いる高菜漬け A_p および高菜漬け B_p の組成にかかる実測値)、分析値 Q_α , Q_β , Q_γ (推定を行う高菜漬けAおよび高菜漬けBの原材料の推定値)、加工係数 Y_α , Y_β , Y_γ (推定に用いる文献から算出した数値)、生鮮換算値 Z_α , Z_β , Z_γ (推定を行う高菜漬けAおよび高菜漬けBの原材料における生鮮濃度の推定値)、加工食品試料全体の分析値を Q_t (推定に用いる高菜漬けAおよび高菜漬けBの実測値)とした。なお、イタリック体は推定値を示す。

$$X_\alpha + X_\beta + X_\gamma = 1 \quad (1)$$

$$Q_\alpha X_\alpha + Q_\beta X_\beta + Q_\gamma X_\gamma = Q_t \quad (2)$$

$$Z_\alpha = Q_\alpha \div Y_\alpha \quad (Z_\beta = Q_\beta \div Y_\beta, Z_\gamma = Q_\gamma \div Y_\gamma) \quad (3)$$

高菜漬けAの事例において、同一ロットを用いた高菜および漬け汁のバクトロゾールの分析値について、漬け

汁が高菜の1/10倍濃度であることから、推定を行う高菜漬けAにも次の式(4)のとおり、当該関係式を適用した。

$$Q_y = Q_\alpha \times 1/10 \quad (4)$$

式(1), (2) および (4) より、次の式(5)が得られた。

$$Q_\alpha X_\alpha + Q_\beta X_\beta + Q_\alpha \times 1/10 \times (1 - X_\alpha - X_\beta) = Q_t \quad (5)$$

ここで、高菜漬けAのごまの種子の組成率が低いことを考慮して、次の式(6)を適用した。

$$X_\beta \approx 0 \quad (6)$$

式(5) および (6) から、式(5)は式(7)となる。

$$Q_\alpha X_\alpha + Q_\alpha \times 1/10 \times (1 - X_\alpha) = Q_t \quad (7)$$

式(7) から Q_α は式(8)で示される。

$$Q_\alpha = 10 \times Q_t \div (9 X_\alpha + 1) \quad (8)$$

さらに、式(3) および式(8)より、高菜の生鮮換算値 Z_α は次の式(9)で示される。

$$Z_\alpha = 10 \times Q_t \div [Y_\alpha \times (9 X_\alpha + 1)] \quad (9)$$

式(9)に、 $Q_t = 0.18$, $X_\alpha = 0.74$, $Y_\alpha = 1.5$ を代入すると、既報¹⁾の試料において分析した高菜漬けAの高菜は生鮮換算値0.16 ppmと推定された。同様に高菜漬けBの高菜は0.04 ppmと推定された($Q_\gamma = Q_\alpha \times 1/11.5$, $Q_t = 0.04$, $X_\alpha = 0.71$, $Y_\alpha = 1.5$)。

7. 原材料間での農薬の移行の検証

上述のように、漬け汁のバクトロゾール濃度は分別した高菜の約1/10であった。バクトロゾールのオクタノール/水分配係数が3.2であること¹⁰⁾、高菜の脂質含有量が0.2%⁹⁾と低いこと、塩分を含んだ漬け汁の浸透圧が高いことなどを考慮すると、バクトロゾールは漬け汁から高菜に移行したのではなく、高菜から漬け汁に移行した、あるいは高菜中から出た水分とともに漬け汁にバクトロゾールが移行したと考えられた。漬け汁から検出されたバクトロゾールがすべて高菜から移行したと考えた場合、漬け汁への移行相当量だけ生鮮換算値が高くなることが予測された。この場合、試料全体のバクトロゾールが高菜のみに由来すると仮定し、高菜の生鮮換算値は、試料全体の分析値を高菜の組成率および加工係数で除算することで得られる。すなわち、次の式(10)から算定される。

$$Z_\alpha = Q_t \div (Y_\alpha \times X_\alpha) \quad (10)$$

この場合の生鮮換算値は、高菜漬けAの高菜が0.16 ppm、高菜漬けBの高菜が0.04 ppmと推定され、原材料間での移行を仮定しない場合と同じ推定値であった。これは、漬け汁の組成率が約30%であったこと、バクトロゾール濃度が高菜に比べて約1/10であったことから、漬け汁への移行を考慮した場合でも顕著な差が認めら

れなかったと考えられる。農薬の移行を考慮しない場合と同様に、高菜漬けAおよび高菜漬けBの高菜は、ともに一律基準値を超えることが推測された。

8. 今後の課題

今回の事例において、加工食品を構成する原材料が比較的単純で、①原材料に分別可能であったこと、②高菜と漬け汁を合わせた主原材料の組成率が99.8%以上であったこと、③一律基準値を超えた検出試料の同一ロット品が入ってきたことから、原材料の残留値を推定できた。

例えば、ごまの種子や唐辛子の組成率が高い場合は、式(6)が適用できず、式(5)は次の式(11)となる。

$$Q_{\alpha} [X_{\alpha} + 1/10 \times (1 - X_{\alpha} - X_{\beta})] = Q_{\alpha} - Q_{\beta} X_{\beta} \quad (11)$$

式(11)において、 X_{α} 、 X_{β} および Q_{α} は定数値であることから、 Q_{α} は Q_{β} に依存する関係式となり Q_{β} の濃度を求める必要がある。本事例では、式(4)および式(6)の適用により、3種類の原材料から構成される加工食品のモデル式で、組成率の低い原材料の解析を省略化することによりバクトロゾール濃度を簡潔に推定できた。

構成する原材料が多く原材料の分別が困難な場合、原材料の残留値の推定が複雑かつ困難になることが推察された。原材料間での移行の検証もさらに複雑となる。

今後の課題および留意点として、次のことが考えられた。

1. 分別可能な加工食品の分析に際しては、試料全体の分析だけでなく、分別した原材料ごとの分析も必要であり、両方の分析に必要な試料量を確保すること。
2. 複数の原材料から構成される液体試料は、原材料への分別が不可能であるため、原材料の残留値の推定方法を新たに構築すること。
3. 原材料間での農薬の移行について検証すること。
4. 加工食品中の原材料の分別手法を検討すること。
5. 原材料の分別技能を加味した分析精度を向上させること。

結 論

複数の原材料から構成される漬物から検出された農薬をモデルケースとして、原材料の残留値を推定することにより、基準適合性の判断に適用可能な手法の一例を考案した。

謝 辞

本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金（基盤研究C：課題番号：21590677）および平成23年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）による助成を受け実施した研究の成果である。

文 献

- 1) Fukui, N., Takatori, S., Kitagawa, Y., Okihashi, M., Kajimura, K., Obana, H. Study of multi-residue method for determining pesticide residues in processed foods manufactured from agricultural products by LC-MS/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, 54, 426-433 (2013).
- 2) Terada, H., Noguchi, S., Maruyama, Y., Kato, H., Tamura, Y., Oka, H. Analytical method for carbamate pesticides in processed foods by LC/MS/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, 49, 125-135 (2008).
- 3) Matsumoto, N., Yoshikawa, M., Eda, K., Kobayashi, A., Yokoshima, M., Murakami, M., Kanekita, H. Simple preprocessing method for multi-determination of 235 pesticide residues in cooked ingredients of foods by GC/MS and LC/MS/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, 49, 211-222 (2008).
- 4) Makabe, Y., Miyamoto, F., Hashimoto, H., Nakanishi, K., Hasegawa, Y. Determination of residual pesticides in processed foods manufactured from livestock foods and seafoods using ion trap GC/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, 51, 182-195 (2010).
- 5) Kobayashi, M., Otsuka, K., Tamura, Y., Tomizawa, S., Kamijo, K., Iwakoshi, K., Sato, C., Nagayama, T., Takano, I. Study on rapid analysis method of pesticide contamination in processed foods by GC/MS and GC-FPD. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, 52, 226-236 (2011).
- 6) 榎元清美, 下堂齒栄子, 岩屋あまね, 福司山郁恵, 吉村浩三. 県内産加工食品の残留農薬実態調査について. 鹿児島県環境保健センター所報, 13, 84-90 (2012).
- 7) Fukui, N., Takatori, S., Kitagawa, Y., Okihashi, M., Osakada, M., Nakatsuji, N., Nakayama, Y., Kakimoto, Y., Obana, H. Application of a rapid and simple multi-residue method for determination of pesticide residues in drinking water and beverages using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, 53, 183-193 (2012).
- 8) Takatori, S., Okihashi, M., Okamoto, Y., Kitagawa, Y., Kakimoto, S., Murata, H., Sumimoto, T., Tanaka, Y. A rapid and easy multiresidue method for the determination of pesticide residues in vegetables, fruits, and cereals using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J. AOAC Int.*, 91, 871-883 (2008).
- 9) 食品成分研究調査会編. 五訂 日本食品成分表. 東京, 医歯薬出版株式会社, 2001, p. 64-65. (ISBN 4-263-70255-7)
- 10) Tomlin, C. D. S. *The Pesticide Manual 14th edition*. UK, British Crop Protection Council, 2006, p. 793. (ISBN 1-901396-14-2)

調査・資料

LC-MS/MSによる農産物を主原料とした加工食品中の
残留農薬一斉分析法の検討

(平成25年5月31日受理)

福井直樹* 高取 聡 北川陽子
起橋雅浩 梶村計志 尾花裕孝Study of Multi-residue Method for Determining Pesticide Residues in Processed Foods
Manufactured from Agricultural Products by LC-MS/MSNaoki FUKUI*, Satoshi TAKATORI, Yoko KITAGAWA, Masahiro OKHASHI,
Keiji KAJIMURA and Hiroataka OBANAOsaka Prefectural Institute of Public Health: 1-3-69 Nakamichi, Higashinari-ku,
Osaka 537-0025, Japan; * Corresponding author

A rapid multi-residue method for determination of pesticide residues in processed foods manufactured from agricultural products was examined. Five mL water was added to 5 g sample in a polypropylene tube, and the tube was left to stand at room temperature for 30 min. Then, 20 mL acetonitrile was added to the sample. The mixture was homogenized in a high-speed homogenizer, followed by salting out with 1 g NaCl and 4 g anhydrous MgSO₄. After centrifugation, the organic layer was purified on a graphitized carbon/PSA cartridge column. After removal of the solvent, the extract was resolved in methanol-water and analyzed with LC-MS/MS. The recoveries of 93 pesticides fortified into 5 kinds of processed foods [Chinese cabbage kimchi, marmalade, raisin, umeboshi (pickled plum) and worcester sauce] were examined at the concentrations of 0.02 and 0.1 µg/g (n=5). The recoveries of 61 pesticides in all foods were 70-120% with relative standard deviation below 20% at both concentrations. Seventy-four processed foods obtained from markets in Japan were examined with this method. Pesticide residues over the maximum residue limit (0.01 µg/g) were detected in 2 processed foods.

(Received May 31, 2013)

Key words: 加工食品 processed food; 残留農薬 pesticide residue; 一斉分析法 multi-residue method; 液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析計 LC-MS/MS; 農産物 agricultural product

緒 言

平成20年1月、メタミドホスが混入された中国製冷凍餃子による中毒事例の発生以降、加工食品を対象とした残留農薬の分析法の開発が強く求められるようになった。

多検体を迅速かつ簡便に分析することを目的として、筆者らは多様な加工食品を物性や脂質、糖分、塩分などの成分含有量を考慮して系統的に整理し、系統に基づいたスクリーニング分析法の構築を目指している。これまで脂質含有量の高い加工食品および飲料を対象としたスクリーニング分析法を構築した¹⁾⁻⁶⁾。

今回、加工食品のうち、漬物、ジャム、乾燥果実などの農産物が主原料であり脂質を多く含まない食品を対象と

した迅速で簡便な残留農薬一斉分析法の実用化を目的とした。これらは加工過程で水分が濃縮されるため水分含有量が低く、糖分、塩分などの農薬の分析を妨害する成分の含有量が高い。このため、QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safety) 法に準拠した生鮮農産物を対象とした分析法^{6), 7)}に加水処理工程を追加して、スクリーニング分析法としての適用性を検証した。

さらに、本法を用いて市場に流通する加工食品の実態調査を行ったので報告する。

実験方法

1. 試 料

試料は大阪府内および兵庫県内の小売店より購入した。

2. 試 薬

試薬は既報に準じた⁶⁾。

* 連絡先 fukui@iph.pref.osaka.jp

大阪府立公衆衛生研究所: 〒537-0025 大阪市東成区中道
1-3-69

3. 評価対象農薬

LC-MS/MSで測定可能(定量下限: 0.01 µg/g)な93農薬を対象とした。

4. 機器

ミル: ナショナルファイバーミキサー MX-X52 (National). フードプロセッサ, ホモジナイザー, 遠心分離器, ローター, 振とう装置およびLC-MS/MSは既報^{1), 6)}に準じた。

5. 測定条件

5.1 HPLC条件

HPLC条件は既報⁶⁾に準じた。

5.2 MS条件

MS条件は既報⁷⁾に準じた。

6. 実験操作

試料全体をフードプロセッサまたはミルで粉碎均一化後, 5gをポリプロピレン(PP)製チューブ(50 mL)に精秤した。その後水5 mLを正確に加水し30分間静置した。アセトニトリル20 mLを正確に添加し, ホモジナイザーで1分間かくはん均一化した。次に, 塩析・脱水するため, 塩化ナトリウム1gおよび無水硫酸マグネシウム4gを添加し, 直ちに1分間振とうした。遠心分離(3,000 rpm; 10分間)後, 有機層16 mLをアセトニトリル-トルエン混液(3:1) 30 mLでコンディショニングしたグラファイトカーボン/PSAカラムカートリッジ(以下GCB/PSAカラム)に正確に注入し, 同混液(3:1) 30 mLで溶出した。GCB/PSAカラム通過液を100 mLナス型フラスコに捕集し, 40°C以下で減圧濃縮した。濃縮液を窒素気流下で乾固後, メタノールを正確に2 mL加えて溶解した。さらに溶解液を水で4倍希釈してLC-MS/MS分析用試験液(1 mL当たり試料0.5g相当量)とした。

各農薬は, ピーク面積を用いる絶対検量線法により定量した。検量線は, 2, 5, 10, 15, 20, 50および75 ng/mLの混合標準溶液を用いて作成した。

7. 添加回収試験

食品の特性に応じて5グループ(漬け物類, 糖分を多く含む食品類, 乾燥果実類, 酸を多く含む食品類, 調味料類)に分類した。各カテゴリから代表的な食品として, それぞれ白菜キムチ, オレンジマーマレード, レーズン, 梅干し, ウスターソースを選定した。なお, 白菜キムチは白菜, 大根, にんじん, におよびごまを原料とした製品を用いた。添加濃度が0.02および0.1 µg/gになるよう農薬混合標準溶液0.2 mLを正確に添加し30分間静置した。なお, 農薬混合標準溶液は, 試料への浸透性を考慮して, アセトン溶液とした。本法に従って操作し, 平均回収率と併行精度(RSD)を求めた(n=5)。それぞれの添加回収試験において, 平均回収率が70%以上120%以下かつRSD 20%以下を良好と判定した。

結果および考察

1. スクリーニング分析法の検討

脂質含有量が少なく農産物を主原料とする加工食品中の残留農薬分析に際して, 始めに生鮮農産物中の残留農薬分析法を適用し検討した。しかし, 漬け物, ジャム, 乾燥果実は加工過程で水分が濃縮され, 生鮮農産物に比べて水分含有量が低く, 糖分, 塩分などの農薬の分析を妨害する成分の含有量が高い。特に今回検討したマーマレードやレーズンは粘り性が高く, 抽出溶媒との混合が悪いため均一化が困難で, われわれの開発した生鮮農産物を対象とした分析法^{6), 7)}が適用できなかった。そこで, 試料にアセトニトリルを混合する前に, あらかじめ等量の水を添加し, 試料の流動性を高め, 同時に糖分, 塩分などの影響を緩和した。

5種類の加工食品(以下評価食品)を対象とした添加回収試験において, LC-MS/MS分析用試験液に析出物あるいは不溶物の生成は認められなかった。

評価食品の添加回収試験について, 回収率およびRSDをTable 1に示した。添加濃度0.02および0.1 µg/gの両濃度で良好と判定された農薬数は, 評価対象93農薬のうち, 白菜キムチで84, オレンジマーマレードで89, レーズンで79, 梅干しで85, ウスターソースで75であった。各農薬について回収率とRSDから, 評価食品および添加濃度別に4つのカテゴリに分類した(Table 2)。5種類の加工食品で2濃度の評価における, 延べ930農薬で良好でないと判定された農薬は, カテゴリ2(回収率が50~69%)が56農薬, カテゴリ3(RSDが20%超過)が8農薬, カテゴリ4(カテゴリ1, 2および3以外)が20農薬であった。0.1 µg/g添加ではカテゴリ3に分類された農薬はなく, 0.02 µg/g添加でも延べ465農薬中8農薬だけであり, 本法が併行精度の高い分析法であることが示唆された。

次に, 各農薬について, 両濃度で良好な結果を得た評価食品数を集計しFig. 1に示した。5種類すべての評価食品で良好と判定された農薬数は61であった。

本研究では脂質の少ない多様な加工食品に適用できるよう, 検量線に絶対検量線法を用いた。その結果, 既報⁷⁾のマトリックス検量線法を用いた生鮮農産物を対象とした残留農薬分析法の結果と比較して, 回収率が低い傾向が認められた。これはマトリックスによるイオン化抑制を反映した結果と推察された。このイオン化抑制の影響は軽微であったが, メタミドホス, アセフェート, プロバモカルブ, エチオフェンカルブおよびフルフェノクスロンの回収率が, 1から5種類の評価食品において70%未満であった。メタミドホス, アセフェートおよびプロバモカルブについては, 分析カラムからの溶出が速い農薬であることから, ピーク形状の異常は認められなかったものの, マトリックスによるイオン化抑制が強く作用したと考えられた。さらにメタミドホスおよびアセフェートは塩析により有機層に分配されにくいことも低回収率の原因と考えられた^{8), 9)}。プロバモカルブは, 蒸気圧が780 mPa¹⁰⁾であり,

Table 1. Recovery test performed by LC-MS/MS at fortification levels of 0.02 and 0.1 µg/g (n = 5)

	Chinese cabbage kimchi				Marmalade				Raisin				Umeboshi ^{a)}				Worcester sauce				Survey ^{b)}
	Fortification level				Fortification level				Fortification level				Fortification level				Fortification level				
	0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g		
	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	
Acephate	NC ^{c)}		34	11	NC ^{c)}		44	8	NC ^{c)}		42	6	NC ^{c)}		46	3	NC ^{c)}		20	14	○
Acetamiprid	88	8	87	1	101	5	104	6	100	11	94	2	95	2	89	4	81	8	89	7	○
Acetochlor	86	5	90	4	91	6	90	4	92	7	91	6	95	13	91	3	78	7	72	3	○
Alachlor	93	11	87	2	90	3	93	2	88	11	96	5	92	7	91	4	89	10	77	5	○
Allethrin	99	8	85	4	101	11	100	3	90	3	85	5	94	9	83	5	92	13	91	7	○
Atrazine	86	7	89	2	90	4	87	3	90	5	89	3	91	4	90	2	59	5	58	4	○
Azoxystrobin	104	7	97	3	107	5	99	3	102	6	107	2	97	1	97	5	74	7	73	5	○
Benfuresate	86	3	87	4	96	7	93	4	90	12	86	4	100	7	87	5	92	9	84	4	○
Bensulide	99	7	96	4	105	9	96	3	93	21	97	3	99	7	96	2	93	5	80	4	○
Bitertanol	95	4	93	5	97	2	98	2	95	10	97	4	98	5	96	1	104	5	90	4	○
Bromobutide	94	4	90	3	86	3	89	3	86	16	97	3	99	6	95	3	85	4	87	4	○
Bupirimate	94	4	95	1	84	2	83	4	90	13	98	4	95	2	96	3	68	3	78	3	○
Buprofezin	86	4	84	5	94	4	96	2	85	3	88	3	81	7	84	3	85	5	85	3	○
Cafenstrole	62	5	59	5	94	5	95	6	101	25	117	7	109	6	99	5	73	4	76	4	○
Carbaryl	92	7	87	2	93	2	90	4	90	6	88	5	89	4	85	5	85	7	81	3	○
Carbofuran	93	3	91	2	104	5	100	2	91	3	92	4	97	4	92	4	81	4	83	2	○
Carfentrazone-ethyl	81	14	81	7	94	9	88	2	95	8	100	5	89	8	87	6	89	13	75	2	○
Chlorpropham	64	10	67	4	95	9	95	4	77	17	85	5	97	8	84	5	80	7	63	8	○
Clomeprop	81	14	84	7	102	7	97	3	76	14	75	4	82	11	79	4	93	8	89	6	○
Cumyluron	86	5	86	1	100	3	96	3	94	15	99	2	99	4	98	2	57	2	54	1	○
Cyanazine	93	3	95	2	92	4	95	6	97	4	94	4	94	3	92	3	94	7	96	3	○
Cyflufenamid	89	3	85	5	98	3	95	4	85	12	86	5	86	8	83	4	73	5	71	4	○
Cyhalofop-butyl	89	10	83	12	81	20	95	11	76	15	75	9	76	12	74	8	92	16	79	4	○
Daimuron	76	6	75	2	89	3	88	1	90	9	95	3	95	1	90	4	64	2	63	2	○
Diethofencarb	92	6	91	2	98	2	97	3	89	15	92	7	96	3	91	3	94	5	85	4	○
Difenoconazole	95	5	90	2	96	4	95	3	90	8	94	4	92	4	90	3	97	5	88	2	○
Diflubenzuron	85	5	83	2	97	6	93	5	89	10	95	4	94	4	88	2	88	5	77	2	○
Diflufenican	76	3	82	5	91	4	89	2	80	8	79	3	81	3	78	4	89	4	79	3	○
Dimepiperate	80	9	82	5	86	5	93	4	80	7	81	6	86	8	77	5	63	7	68	6	○
Dimethametryn	88	3	87	1	83	1	81	3	83	13	87	4	91	4	87	5	73	3	72	2	○
Dimethoate	83	5	88	3	100	6	101	5	95	6	96	5	95	4	87	4	93	5	87	6	○
Dimethomorph	89	5	88	4	95	9	91	1	96	28	101	4	98	2	97	3	100	4	84	2	○
Diphenamid	89	4	85	2	95	2	93	4	86	7	84	3	90	2	86	2	77	4	75	1	○
Esprocarb	82	4	76	2	97	3	91	3	73	5	71	2	77	2	73	3	67	3	67	2	○
Ethiofencarb	85	8	83	3	64	6	66	2	59	15	46	20	72	9	69	3	63	4	61	5	○
Ethofumesate	74	10	68	10	92	7	91	2	84	16	92	5	93	8	88	3	50	18	45	9	○
Fenarimol	99	7	98	4	99	7	103	4	96	24	104	7	114	15	103	7	112	8	109	4	○

Table 1. Continued

	Chinese cabbage kimchi				Marmalade				Raisin				Umeboshi ^{b)}				Worcester sauce				Survey ^{b)}
	Fortification level		Fortification level		Fortification level		Fortification level		Fortification level		Fortification level		Fortification level		Fortification level		Fortification level				
	0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g		
	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	
Fenbuconazole	94	3	95	4	91	3	96	2	90	15	100	2	109	3	99	2	119	3	97	2	○
Fenobucarb	83	3	79	3	94	3	93	2	78	22	83	4	88	2	89	3	87	5	71	1	○
Fenoxaprop-ethyl	94	4	89	5	97	6	96	2	87	7	88	4	81	5	75	3	76	3	77	3	○
Fenoxycarb	80	5	80	6	98	4	95	5	85	17	92	5	98	4	94	2	83	4	75	2	○
Fenpropimorph	82	3	80	6	93	4	92	5	81	5	86	3	83	5	83	4	72	3	77	1	○
Flufenoxuron	77	10	78	12	NC ^{c)}		47	3	72	7	68	3	66	10	63	8	62	5	62	4	○
Flusilazole	94	5	93	1	99	5	95	2	88	18	99	3	101	4	96	2	104	6	90	1	○
Furathiocarb	98	3	90	4	104	4	98	5	96	2	99	2	93	4	91	3	85	6	79	2	○
Hexaconazole	93	5	94	2	96	4	98	1	92	9	100	5	97	5	93	1	99	4	86	2	○
Hexafumuron	87	9	80	13	86	7	80	4	68	13	81	4	67	15	66	5	89	8	75	7	○
Imazalil	96	5	99	4	87	7	91	5	94	7	95	2	84	7	88	2	80	14	85	6	○
Imibenconazole	98	8	92	9	94	10	87	3	89	4	91	3	70	7	67	4	86	4	77	2	○
Indanofan	85	6	87	7	84	10	94	5	83	20	93	6	93	6	87	5	107	6	95	4	○
Iprovalicarb	95	7	95	3	88	3	88	3	88	14	102	6	92	6	98	3	96	5	82	3	○
Isoproc carb	87	3	87	1	88	5	88	4	87	6	91	4	92	5	88	2	69	3	72	3	○
Isoprothiolane	87	2	84	3	84	2	86	3	86	20	95	3	92	3	92	4	85	4	85	3	○
Isoxathion	91	3	88	3	97	8	100	2	86	9	92	2	85	6	83	4	77	4	74	4	○
Lufenuron	81	8	83	15	92	5	83	4	71	9	74	2	64	14	60	10	78	12	76	4	○
Mefenacet	85	3	88	2	97	2	94	3	91	16	101	3	97	3	96	2	54	3	50	1	○
Mepanipyrim	76	7	73	2	92	5	93	2	81	18	87	3	88	6	83	2	73	5	65	4	○
Metalaxyl	96	6	97	2	106	2	99	2	99	4	104	5	99	2	98	3	80	3	82	3	○
Methabenzthiazuron	97	3	92	2	93	5	94	4	91	3	94	4	90	5	94	3	82	4	83	3	○
Methamidophos	74	9	79	4	84	11	80	4	71	8	67	7	81	4	77	3	73	7	73	8	○
Methomyl	70	7	69	5	101	6	100	4	85	7	86	5	76	3	79	4	77	9	79	5	○
Metolcarb	91	5	93	2	84	4	85	3	89	7	90	6	91	5	84	3	87	4	86	6	○
Monocrotophos	83	4	83	5	101	5	95	4	87	6	89	4	90	4	88	2	90	5	87	4	○
Napropamide	89	4	90	2	80	2	81	4	83	13	90	3	97	4	94	3	93	3	81	2	○
Omethoate	59	5	59	1	103	4	93	4	85	5	79	6	88	5	87	2	67	5	69	1	○
Oxamyl	96	10	96	3	106	10	98	4	101	5	95	9	95	11	88	7	102	3	91	4	○
Paclobutrazol	89	5	89	2	93	5	92	3	92	17	100	4	93	3	97	2	107	4	92	4	○
Penconazole	92	1	93	2	95	4	95	2	88	11	98	3	94	5	94	4	96	4	81	5	○
Pencycuron	95	1	92	5	100	5	98	4	91	9	96	2	91	4	89	2	86	3	82	4	○
Pentoxazone	71	10	74	10	90	12	93	10	74	19	74	8	74	13	70	9	92	6	86	5	○
Phoxim	88	8	85	6	76	5	55	3	89	6	92	5	84	11	75	8	74	9	71	5	○
Pirimicarb	88	4	87	3	91	1	93	4	79	3	82	5	83	3	77	2	79	5	78	4	○
Pretilachlor	96	3	92	4	96	3	98	2	92	5	96	3	94	4	93	2	86	5	83	3	○
Prochloraz	102	2	97	4	93	6	93	3	96	12	99	2	94	3	91	2	101	7	89	3	○
Propamocarb	60	6	66	5	78	1	86	5	NC ^{c)}		27	10	NC ^{c)}		45	8	NC ^{c)}		39	3	○

Table 1. Continued

	Chinese cabbage kimchi				Marmalade				Raisin				Umeboshi ^{a)}				Worcester sauce				Survey ^{b)}
	Fortification level		Fortification level		Fortification level		Fortification level		Fortification level		Fortification level		Fortification level		Fortification level		Fortification level				
	0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g		0.02 µg/g		0.1 µg/g		
	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	
Propoxur	100	2	89	4	101	9	97	5	93	5	96	7	99	6	94	2	88	10	87	1	○
Propyzamide	62	5	65	4	94	9	94	3	88	13	92	4	91	5	91	1	66	8	55	4	○
Pyriproxyfen	89	5	89	7	87	3	86	3	83	4	87	4	80	6	74	5	76	4	77	3	○
Pyroquilon	90	4	80	5	98	10	95	4	91	7	88	5	100	7	95	1	91	7	86	6	○
Quinoclamine	105	21	89	4	91	13	80	9	95	5	88	11	67	14	71	14	90	21	86	10	○
Quizalofop-ethyl	92	2	86	3	103	5	100	3	82	4	82	3	80	3	79	3	80	4	76	3	○
Tebufenozide	87	3	95	3	100	8	95	2	91	6	97	4	96	3	98	4	83	4	75	3	○
Tebuconazole	100	7	96	3	95	7	96	4	94	13	102	4	100	4	96	4	98	7	86	4	○
Tebufenpyrad	88	9	85	7	98	5	94	2	82	9	86	2	87	8	85	2	88	7	89	3	○
Tefubenzuron	77	17	74	6	94	4	91	4	67	13	71	5	79	9	77	3	74	18	71	3	○
Thenylchlor	93	4	93	3	101	4	97	2	90	20	99	5	99	4	97	1	96	4	89	2	○
Thiacloprid	93	7	88	3	109	5	100	5	90	5	90	5	100	5	96	4	84	6	86	3	○
Thiobencarb	89	5	85	2	90	3	86	0	81	7	80	5	85	3	78	3	85	5	77	2	○
Triadimefon	84	6	87	3	96	2	95	3	92	23	100	3	97	6	98	2	76	6	71	2	○
Triadimenol	93	6	90	3	96	4	93	3	89	19	99	4	98	5	97	2	104	8	90	4	○
Tri-allate	77	7	75	4	88	8	81	1	65	11	63	7	78	9	70	7	81	11	78	2	○
Trichlamide	82	8	82	4	86	5	93	4	78	13	86	4	87	6	85	4	81	4	76	4	○
Triflumizole	97	3	93	4	94	4	92	3	96	6	96	3	84	2	80	4	88	9	86	4	○
Passed pesticides ^{d)}	84				89				79				85				75				

^{a)} Plums (ume) pickled in salt and dried

^{b)} Pesticides targeted in survey

^{c)} NC = Not calculated due to poor recovery (<0.01 µg/g of LOQ)

^{d)} The number of pesticides with acceptable recovery (70-120%) and RSD (0-20%)

Table 2. Ninety three pesticides categorized by recovery and RSD of recovery test

Category	Criteria	Fortification level ($\mu\text{g/g}$)									
		Chinese cabbage kinchi		Marmalade		Raisin		Umeboshi		Worcester sauce	
		0.02	0.1	0.02	0.1	0.02	0.1	0.02	0.1	0.02	0.1
1	Recovery (70–120%) RSD (0–20%)	86	85	90	89	81	87	87	86	77	78
2	Recovery (50–69%) RSD (0–20%)	5	7	1	2	4	3	4	5	13	12
3	Recovery (70–120%) RSD (>21%)	1	0	0	0	6	0	0	0	1	0
4	Except category 1, 2 and 3	1	1	2	2	2	3	2	2	2	3

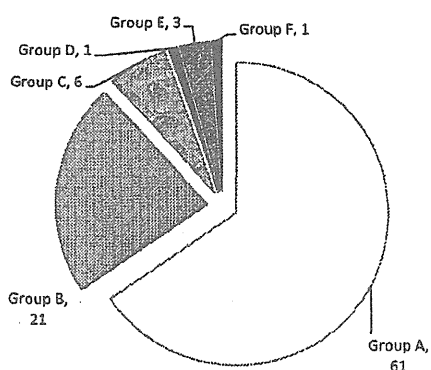


Fig. 1. Groups of pesticides classified by recovery tests

Each segment indicates the number of pesticides within acceptable recovery (70–120%) and RSD ($\leq 20\%$) at both fortification levels (0.02 and 0.1 $\mu\text{g/g}$) among 93 pesticides in processed foods.

Group A; 61 pesticides in 5 kinds of processed foods

Group B; 21 pesticides in 4 kinds of processed foods

Group C; 6 pesticides in 3 kinds of processed foods

Group D; 1 pesticide in 2 kinds of processed foods

Group E; 3 pesticides in 1 kinds of processed foods

Group F; Except groups A, B, C, D, and E (1 pesticide)

濃縮によって揮散しやすいことが低回収率の主な原因と考えられた。一方、エチオフェンカルブは、スルホキッドまたはスルホン体に酸化されやすいことが知られており^{11)~13)}、前処理工程での損失が考えられた。また、フルフェノクスロンについては、精製工程のグラファイトカーボンへ吸着されたためと推察された。

レモンなどの酸性食品では、イマザリルなどの農薬で低回収率になることが懸念されたが¹³⁾、本法では70%以上の回収率が得られた。Anastassiadesらは、pH 2.5~7の

範囲に調製したりんごジュースを用いて検証し、中和せずにアセトニトリルで抽出した結果、イマザリルやチアベンダゾールについて良好な回収率が得られたことを報告している¹⁴⁾。また、本法の基礎とした分析法⁷⁾およびLehotayらの結果¹⁵⁾においても、抽出前に中和を目的とした緩衝塩を添加せず、オレンジ中のイマザリルについて良好な回収率が報告されている。さらに本法は、試料に加水していることも踏まえて、梅干しなどの酸性食品についても基本的には緩衝塩を添加せずに適用できると考えられた。一方、本研究の対象外であるがピメトロジンあるいはジクロフルアニドなど、食品のpHにより回収率が大きく変動する農薬については、抽出前に緩衝塩を添加することにより回収率が改善することが報告されている¹⁶⁾。食品のpHの影響を受ける農薬を本法に適用する場合には、抽出前に緩衝塩を添加することが有効であると思われた。

2. 市場流通品の実態調査

市場に流通する74品目を対象とした。検体の詳細をTable 3に示した。これら食品は農産物を主原料としており、容器包装に表示された栄養成分の脂質含量は1%未満であった。容器包装内の食品は、漬け汁などを含めて全体を、梅干しは種子を除外したものを分析対象とし、本法に従って操作した。測定対象農薬は、5種類の加工食品を対象とした添加回収試験においてすべて良好と判定された61項目とした (Table 1)。

市場流通品74品目の実態調査の結果、2品目から一律基準値を超えて農薬が検出された。ごま入りの高菜漬け (以下高菜漬けA) から0.18 ppm、唐辛子入りの高菜漬け (以下高菜漬けB) から0.04 ppmのバクロプロラゾール (トリアゾール系植物成長調整剤) が検出された。そこで、厚生労働省から通知されているバクロプロラゾールの個別試験法 (以下通知法)^{*1)}により分析を行った結果、高菜漬けA

*1 「食品に残留する農薬、試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日付け食安発第0124001号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知)

Table 3. Samples of commercial processed foods manufactured from agricultural products tested

Group	Criteria	Number	Examples of monitored foods
1	Pickles	21	Chinese cabbage kimchi, Pickles (Cucumber, Eggplant)
2	Large amount of saccharide	21	Marmalade, Jam (Strawberry, Apple)
3	Dry fruits	11	Raisin, Prune, Cherry, Pineapple
4	Large amount of acid	6	Umeboshi, Pickled plum pulp
5	Seasoning	15	Worcester sauce, Ketchup, Tomato puree
Total		74	

は0.22 ppm, 高菜漬けBは0.03 ppmであった。

本法は、比較的少量(5g)の試料を用いた方法である。分析対象がある程度均質化された加工食品であること、一次スクリーニングのための試験法であること、試料量を減じることで操作性を高めることができたことから、試料量を5gとした。本法を用いたバクロプトラゾールの検出値は、20gの試料を分析した通知法と同等の検出値が得られた。

食品衛生法において、加工食品の残留農薬基準は、個別に基準が設定されているトマトジュースなど一部の加工食品を除いて、原則一律基準値(0.01 ppm)が適用される。ただし一律基準値を超過した場合でも、当該加工食品の原材料がそれぞれに設定された個別の基準値に適合すれば、当該加工食品も基準に適合するとみなされる^{**}。バクロプトラゾールが検出された上述の高菜漬けにおいても、同様に原材料における基準適合性を踏まえて判断する必要がある。

結 論

農産物を主原料とした脂質含有量の低い加工食品について迅速で簡便な残留農薬一斉分析法の検討を行った。生鮮農産物を対象とした分析法を一部改良し、均一化試料に等量の水を加えて抽出を行った。5種類の加工食品を対象とした添加回収試験を行ったところ、良好な結果が得られた。本法を活用し、市場流通品74品目の実態調査を行った結果、2品目から一律基準値を超えて残留農薬が検出された。

謝 辞

本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金(基盤研究C:課題番号:21590677)および平成23年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)による助成を受け実施した研究の成果である。

^{**}「食品衛生法等の一部を改正する法律による改正後の食品衛生法第11条第3項の施行に伴う関係法令の整備について」(平成17年11月29日付け食安発第1129001号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知)

文 献

- 1) Okamoto, Y., Takatori, S., Kitagawa, Y., Okihashi, M., Fukui, N., Murata, H., Sumimoto, T., Tanaka, Y., Obana, H. Determination of pesticides in chinese dumpings using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, 50, 10-15 (2009).
- 2) Kitagawa, Y., Okihashi, M., Takatori, S., Okamoto, Y., Fukui, N., Murata, H., Sumimoto, T., Obana, H. Multi-residue method for determination of pesticide residues in processed foods by GC/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, 50, 198-207 (2009).
- 3) Kitagawa, Y., Okihashi, M., Takatori, S., Okamoto, Y., Fukui, N., Murata, H., Sumimoto, T., Obana, H. Multi-residue method for determination of pesticide residues in processed foods by GC/MS/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, 50, 243-252 (2009).
- 4) Takatori, S., Okihashi, M., Kitagawa, Y., Fukui, N., Kakimoto-Okamoto, Y., Obana, H. Rapid and easy multi-residue method for determination of pesticide residues in foods using gas or liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Pesticides-Strategies for Pesticides Analysis*, Stoytcheva, M., ed., Croatia, InTeck, 2011, p. 197-214. (ISBN978-953-307-460-3).
- 5) Fukui, N., Takatori, S., Kitagawa, Y., Okihashi, M., Osakada, M., Nakatsuji, N., Nakayama, Y., Kakimoto, Y., Obana, H. Application of a rapid and simple multi-residue method for determination of pesticide residues in drinking water and beverages using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, 53, 183-193 (2012).
- 6) Okihashi, M., Kitagawa, Y., Akutsu, K., Obana, H., Tanaka, Y. Rapid method for the determination of 180 pesticide residues in foods by gas chromatography/mass spectrometry and flame photometric detection. *J. Pesticide Sci.*, 30, 368-377 (2005).
- 7) Takatori, S., Okihashi, M., Okamoto, Y., Kitagawa, Y., Kakimoto, S., Murata, H., Sumimoto, T., Tanaka, Y. A rapid and easy multiresidue method for the determination of pesticide residues in vegetables, fruits, and cereals using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J. AOAC Int.*, 91, 871-883 (2008).
- 8) Ueno, E., Ohno, H., Tanahashi, T., Oshima, H., Mikami, E., Nemoto, S., Matsuda, R. Analysis of acephate, methamidophos and omethoate in animal and fishery