

農産物中の残留農薬検査結果とスクリーニング手法の検討 (平成 19～21 年度)

西森 一誠・宅間 範雄・中村 秋香・高宮 真美・鎌倉 温子・西山 佳央里
麻岡 文代^{*1}・荒尾 真砂^{*2}・古田 和美^{*3}・山崎 葉季^{*4}・川田 常人^{*4}

Survey of Pesticide Residues in Agricultural Products from April 2007 to March 2010 and Examination of Screening technique

Kazuo NISHIMORI, Norio TAKUMA, Akika NAKAMURA, Masami TAKAMIYA,
Atsuko KAMAKURA, Kaori NISHIYAMA, Fumiyo ASAOKA ,
Masa ARAO, Kazumi FURUTA, Hagi YAMASAKI and Tsuneto KAWADA

【要旨】 食品中に残留する農薬等について平成 18 年 5 月にポジティブリスト制度が導入されたことに伴い、平成 21 年度まで厚生労働省通知法に準じて、GC/MS 及び LC/MS/MS による残留農薬の一斉分析を行った。平成 21 年 7 月に、分析の効率化のため、QuEChERS 法と固相カラムによる精製を組み合わせた STQ 法による前処理と GC/MS への試料大量注入法を導入し、スクリーニング試験として残留農薬一斉分析を実施した。スクリーニング試験導入経緯と平成 19 年度から 21 年度までの残留農薬一斉分析の測定結果を取りまとめた。

Key words : 残留農薬, 農産物, GC/MS, LC/MS/MS, QuEChERS 法, STQ 法
pesticide residues, agricultural products, GC/MS, LC/MS/MS, QuEChERS

はじめに

食品中に残留する農薬等(以下、残留農薬)の試験について、平成 18 年 5 月のポジティブリスト制度施行に伴い、多数の農薬等の微量分析が必要となった。また、平成 19 年 12 月の中国製冷凍餃子事件等から、今まで以上に迅速な試験結果の提供が求められる状況となった。

当所では、従来の GC-ECD、GC-FTD 等による個別試験法に替えて、平成 18 年度から厚生労働省通知による一斉分析法(通知法)¹⁾により、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)及び液体クロマトグラフタンデム質量分析計(LC/MS/MS)を用いて 100 種類程度の残留農薬について一斉分析を行ってきた。

ポジティブリスト制度では、個別基準値が設定されていない残留農薬には一律基準値が適用されるため、試験における定量下限値の目標は、その

0.01ppm とした。しかしながら、試料マトリックスの影響や老朽化した分析機器の感度不足などから、目標レベルまで測定できた残留農薬の項目は 30% 程度であった。

平成 21 年度、GC/MS 及び固相カラム前処理装置の更新に伴い、前処理方法を含めて、迅速で感度・精度の高い分析法の検討を行い、新たな試験方法を用いて農産物中の残留農薬についてスクリーニング試験を行った。

I 平成 19, 20 年度の検査結果

1. 試料

平成 18 年度までの残留農薬分析では、1 回の試験ごとに多品目で計 25 検体程度を対象とし、一斉及び個別試験法を組み合わせるため、試験結果の報告には 2 ヶ月程度を要していた²⁾。

※1 中央東福祉保健所 ※2 医療薬務課 ※3 環境対策課 ※4 元衛生研究所

平成 19 年度から、検査期間の短縮とマトリックス等の影響を検討するため、1 試験あたり 2 品目 10 検体を原則とした。

平成 19 年度は 19 品目の県産野菜と果実 99 検体について一斉分析を行った。平成 20 年度は、中国でのメラミン混入事件への対応等もあり、一斉分析では県産野菜 8 品目 40 検体と冷凍野菜 3 品目 10 検体を分析した。

2. 対象農薬

各試薬メーカーで農薬混合標準液が順次整備され、これに、当所で過去に検出された農薬等を追加し、平成 19 年度当初は GC/MS 測定で 71、LC/MS/MS 測定で 44、両機器での重複測定を含め計 106 農薬を検査対象とした。

なお、当所で調整した標準液は、順次、市販混合標準液に切り替えて行った。

3. 検査方法

試薬、装置及び分析条件等は前報の一斉分析に従った²⁾。

品目ごとに 1 試料を用いて、0.05ppm 及び 0.1ppm の添加回収及びスパイク試験を行い、回収率 60～150%の農薬について定量化した。

通知法に準拠した一斉分析の前処理フローを図 1 に示した。

II 検査方法の検討

1. 通知法の課題

通知法に準拠した試料前処理では、抽出溶液をロータリーエバポレーターで濃縮乾固、再溶解を繰り返すこととなる。この作業が律速となり、職員は長時間、減圧調整等を行うために拘束される。

また、固相カラムでの精製も、自然流下であり、試料の状態等による流下速度のバラツキが、濃縮乾固の工程とあわせて、誤差の要因となることも考えられた。

GC/MS((株)島津製作所製 QP5050A)による分析では、平成 19 年度は感度確保のため SIM 測定を行ったが、ソフト上の制約もあり、測定テーブルの複雑化や一試料複数回測定が必要などの問題が生じた。このため、平成 20 年度は、比較的感度の高い GC/MS(日本電子(株)Automass AM II 150)による SCAN 測定に切り替えたが、一部農薬では十分な感度が得られなかった。

通知法による一斉分析では、前処理工程での単純作業に人手を取られるため、機器更新と分析全体の見直しを考えた。

2. 分析機器及び検査方法の検討

平成 21 年には、アメリカの経済不安に伴い、アセトニトリルの入手難も予想される状況があり、分析方法の変更を含めて更新機器の検討を行った。

まず、前処理に関しては、多検体自動濃縮装置や一般的な固相カラムを対象とした抽出装置等を検討したが、労力削減や精度向上には寄与するものの、大幅な時間短縮は困難と考えられた。

この検討過程で、残留農薬分析に特化した前処理装置が開発されたとの情報が得られた。

当該装置は、2003 年 Anastassiades らにより残留農薬分析の前処理として開発された QuEChERS 法と固相カラムによる精製を組み合わせた STQ 法 (Solid Phase Extraction Technique with QuEChERS method) に特化した自動前処理装置である。溶媒量の削減と濃縮乾固の工程が不要なことから、前処理の大幅な時間短縮が見込まれた。また、使用する固相カラムは、従来の市販カラムより充填量の少ないミニカラムを用いるので、コスト的にも問題のないことが確認できた。

既存の四重極型 GC/MS の更新に関しては、各社の製品とも一定の感度を有していると見られた。この中で、通常 1～2 μl の試料注入に対し、20～50 μl の大量注入が可能となる装置が開発されたことから、機器構成を決定した。

また、夾雑物の多い試料の場合、高速液体クロマトグラフを精製カラムとして利用し、目的成分の保持時間の液層を固相カートリッジに一旦吸着させ、GC/MS に直接注入するためのインターフェイスも整備することとした。

3. 装置構成

平成 21 年度の残留農薬分析に用いた機器構成の概要を以下に示す。

残留農薬用自動前処理装置：(株)アイステイサイエンス STQ-L200

GC/MS：日本電子(株)四重極質量分析計 JMS-Q1000GCMk II

GC 大量注入装置：(株)アイステイサイエンス LVI-S100

LC-GC インターフェイス：(株)アイステイサイエンス LGI-S100

LC/MS/MS：ジャスコインターナショナル(株)Micromass Quattro Ultima™ Pt(既存品)

4. 検査の位置づけ

厚生労働省通知³⁾により、新たな試験方法を用いる場合には、その妥当性を評価する必要がある。

このため、平成 21 年度は、STQ 法による試験をスクリーニング試験として位置づけて一斉分析を行った。この試験で、比較的高濃度な結果や判断が困難な結果が生じた場合には、通知法による再検査を実施することとして残留農薬検査を行った。あわせて、ガイドラインに基づく妥当性評価(バリデーション試験)を開始した。

STQ 法では、測定対象とする農薬成分に応じて、使用カラムや液層が異なる前処理方法が用意されているが、当所では、従来測定対象としていた農薬を中心に測定する手法を選択した。

図 2 に STQ 法による前処理フローの一例を示す。

Ⅲ 平成 21 年度の検査結果

1. 試料

平成 21 年 7 月に機器整備を行い、保管試料で STQ 法の確認試験を行った。良好な結果が得られたことから、8 月から県産野菜 8 品目 47 検体、冷凍野菜 6 品目 18 検体について一斉分析を実施した。

2. 対象農薬

バリデーション試験等を考慮し、市販の混合農薬標準液を使用することとした。

GC/MS 測定には、関東化学(株)混合農薬標準液 22、同 34、LC/MS/MS 測定には、同 22、53、54、58 を用時に混合して用いた。

原則として、GC/MS では標準液含有 86 農薬のうち 79 農薬を、LC/MS/MS では 98 農薬のうち 21 農薬を測定対象とした。

3. 検査方法

1 回あたりの一斉分析では、原則 2 品目で計 10 検体程度とし、品種ごとに 1 検体、2 濃度の添加回収及びスパイク試験を行った。回収率 70~120%のものについて定量化し、また、判定しがたいものについては、通知法に基づき GC-ECD 等で確認を行った。

GC/MS 測定では、大量注入装置により 50 μ l までの試料注入が可能になったことから、今回の分析では、従来の 2 μ l から、25 μ l の注入に変更した。

STQ 法による前処理フローの一例を図 2 に示した。なお、分析条件等は、中村らの報告⁴⁾に示した。

Ⅳ 残留農薬検査の結果

1. 通知法による一斉分析

平成 19~20 年度の一斉分析では、ブランチング野菜を含めて 22 品目 149 検体について、通知法による試験を行い、9 品目 18 検体から 11 種類の農薬が延べ 28 件検出された(表 1)。これらの農薬は、いずれも個別基準値が設定されており、平均の検出濃度はその基準値の 5%程度、最大濃度で 20%であった。

2. STQ 法によるスクリーニング試験

平成 21 年度は、14 品目 65 検体について、残留農薬検査を行った。6 品目 16 検体から 14 種類の農薬が延べ 27 件検出された。いずれも個別基準値が設定されており、各農産物の基準に対して平均 8%、最大のもので 40%の濃度値であった。

夾雑物の影響で、GC/MS による判断が困難な事例が冷凍グリーンピースでのシペルメトリンで見られた。通知法による GC-ECD 測定で確認試験を行った結果、検出されなかった。

通知法 前処理フロー(野菜等)

sample 1kg 均質化(フードプロセッサー)

sample 20g 秤量
アセトニトリル 35ml
ホモジナイズ(1,200rpm 3min)

吸引ろ過(or 遠心分離)
残留物
● アセトニトリル 30ml
ホモジナイズ

吸引ろ過

ろ液(or 上澄液) 100ml に定容(抽出液)

抽出液 20ml 分取
NaCl 10g
0.5mol/L リン酸緩衝液 20ml
振とう 10min

アセトニトリル層 水層
アセトニトリル 20ml
振とう 5min

ろ過
無水硫酸ナトリウム(適量)

減圧濃縮(<40°C)・N₂ ガス乾固
トルエン・アセトニトリル(1:3)

ENVI-Carb/LC-NH₂(Conditioning 10ml)
ナスフラ 2ml×3回(超音波溶解)

トルエン・アセトニトリル(1:3) 40ml で溶出

減圧濃縮(<40°C) <1ml
アセトン 10ml 再濃縮 <1ml
アセトン 5ml

減圧濃縮(<40°C)・N₂ ガス乾固

アセトン・ヘキサン(1:1) 4ml

2ml
GC/MS
2ml 減圧濃縮
メタノール転溶 2ml
Filter(0.2μm)
LC/MS/MS

※GC/MS 注入量 2μl
※LC/MS/MS 注入量 5μl

図1 通知法前処理フロー

STQ-GCB法 前処理フロー(野菜等)

sample 1kg 均質化(フードプロセッサー)

sample 10g 秤量
アセトニトリル 10ml
ホモジナイズ(ジェネレーター12,000rpm 1min)
NaCl 1g
クエン酸 3Na₂ 水和物 1g
クエン酸水素 2Na_{1.5} 水和物 0.5g
無水硫酸マグネシウム 4g
(計量スプーン)
振とう(手動 1min)

遠心分離(3000rpm 5min)

アセトニトリル層 試料層 水層
STQ-LC法へ
分取 1ml 【前処理装置:6バッチ】

C18-30mg・精製
洗液 80%アセトニトリル/水 1ml
流出液
10%食塩水 20ml
C18-50mg : 保持

乾燥(N₂gas 2min)

連結固相 PSA-30mg : 精製
溶出 アセトン/ヘキサン(3:7) 1ml
溶出液
IS+PEG(300)/アセトン
定容(1ml アセトン/ヘキサン(3:7))

GC/MS(大量注入)

STQ-LC法
分取 1ml 【前処理装置:6バッチ】

C18-30mg+PSA-30mg
溶出 メタノール 1ml
流出液
水 0.5ml
C18-50mg
洗液 80%メタノール 1ml
流出液
定容(4ml 水)

LC/MS/MS

※アセフェート, メタミドホス等には STQ-GCA 法
※動物用医薬品等への適用手法は開発中
※GC/MS 注入量 25μl
※LC/MS/MS 注入量 5μl

図2 STQ法前処理フロー

2. 試験方法の検討

平成 17 年度まで、行政依頼として農産物の残留農薬検査は、年間 50 検体程度について GC-ECD、GC-FTD 及び GC/MS (SIM) により一斉分析法と個別分析法により農薬 50 項目程度を 2 ヶ月以上を要して分析していた。

ポジティブリスト制度施行後、一律基準値レベルで正確かつ迅速な結果が求められるようになり、平成 18~20 年度は、通知法に基づく一斉分析で対応した。

この方法では、試料の前処理に、順調にいつて職員 5 名で 4 日間、週末に機器分析を開始し 3~4 日間を要し、スクリーニング的な結果が得られるまでには 2 週間、再試験等を含めると、最終報告までに 1 ヶ月を要していた。

試験溶液の突沸による手戻りや老朽化等で分析機器が停止し、再試験の繰り返しの状態が頻発した。このため、機器更新を機会に、新たな試験方法の導入を検討した。

QuEChERS 法では 50ml 遠沈管内で試料と溶媒をホモジナイズ(ジェネレーター)する操作が完了するため、通知法の 1/5 程度、1 検体 10 分足らずで抽出が終了する。STQ 法による固相カラムを用いた精製では、手作業で行った場合でも、蒸発乾固の工程がないこともあり、1 試料当たり GC/MS 用で 15 分、LC/MS/MS 用で 10 分程度で試験溶液の調整が可能となる。

自動前処理装置 (STQ-L200) を用いた場合は、1 回当たり 6 試料について、固相カラムのコンデショニングから試験溶液の溶出までを無人で行う。GC-B 法で約 1 時間 30 分、LC 法で 40 分程度で完了するため、その間、職員は他の業務に対応することが可能となった。

四重極型 GC/MS の更新により、感覚的ではあるが従来機と比較して 10 倍程度の感度が得られ、あわせて導入した試料大量注入装置により、GC での濃縮が可能となったことから 100 倍近くの低濃度測定が可能となった。

また、分析結果の解析ソフトの改良による時間短縮も図られ、およそ半分の人員と時間で残留農薬の一斉分析が可能になったと考えられた。

平成 19~21 年度の一斉分析の対象農薬、定量下限値等の一例を表 3 に示した。検討途中であり、最適条件を求めるには至っていないが、GC/MS では、ppb オーダーの測定も可能と考えられた。また、LC/MS/MS 測定でも、前処理方法を変更し、精製が十分に行われたことから、定量下限値が引き下げられたものが見られた。

平成 21 年度からは、STQ 法を一斉分析のスクリーニング試験と位置づけて実施し、余剰の人員、時

間をバリデーション試験や試験内容の検討にあてることとした。引き続き、対象農産物を変えてバリデーション試験を実施しており、今後は、この手法を当所での一斉分析とする予定である。

現時点では、アセフェートやメタミドホスなど、過去の検出例や問題となった農薬がスクリーニング対象となっていないなどの課題もあるが、バリデーション試験等を通じて、より適用範囲の広い前処理方法等の検討を加えることで効率的な一斉分析が可能となると考えている。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長：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方法について. 食安発第 0124001 号, 平成 17 年 1 月 24 日.
- 2) 池本和美ら：農産物中の残留農薬検査結果(平成 18 年度). 高知衛研報, 53, 55-64, 2007.
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長：食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて. 食安発第 1115001 号, 平成 19 年 11 月 15 日.
- 4) 中村秋香ら：自動前処理装置を用いた食品中残留農薬一斉分析法の妥当性評価. 高知衛研報, 56, 53-62, 2010

表3 定量下限値の比較

G C / M S					
農薬名	類	基準	H19	H20	H21
アセタミプリド	殺菌剤	5	<0.5	<0.5	未定量
イプロジオン		5.0	<0.1	<0.1	<0.01
エディフェンホス			<0.05	<0.1	<0.01
カブタホール					<0.01
キャプタン		5.0			<0.01
クレソキシムメチル		0.5	<0.02	<0.01	
ジエトフェンカルブ		5.0	<0.05	<0.05	<0.01
ジクロフルアニド		15	<0.02	<0.05	未定量
ジクロロボス及びナレド		0.2			未定量
ジフェノコナゾール		1	<0.2	<0.2	<0.01
シプロコナゾール		0.05	<0.1	<0.1	<0.01
テブコナゾール		0.2	<0.05	<0.05	<0.01
トリシクラゾール		0.02	<0.1	<0.1	未定量
トルクロホスメチル		2.0	<0.01	<0.01	<0.01
ピリフェノックス		0.1	<0.05	<0.1	<0.01
フェナリモル		0.5	<0.05	<0.05	<0.01
フルシラゾール			<0.01	<0.02	<0.01
フルトラニル		2.0	<0.02	<0.02	<0.01
プロシミドン		5	<0.02	<0.02	
ミクロブタニル	1.0	<0.05	<0.02	<0.01	
メプロニル	1.0	<0.05	<0.05	<0.01	
BHC	0.2	<0.05	<0.05	<0.01	
DDT	0.2	<0.01	<0.02		
EPN	0.1	<0.1	<0.1	<0.01	
γ-BHC	2	<0.02	<0.02	<0.01	
アクリナトリン	0.5	<0.1	<0.2	<0.01	
イソフェンホス		<0.02	<0.02	<0.01	
イソプロカルブ		<0.02	<0.01	<0.01	
イミベンコナゾール		<0.2	<0.2	<0.01	
エチオフェンカルブ	5			<0.01	
エトフェンプロックス	2	<0.1	<0.1		
エトプロホス	0.02	<0.05	<0.02	<0.005	
カズサホス	0.05	<0.05	<0.1	<0.01	
キナルホス	0.05	<0.05	<0.05	<0.01	
キノメチオナート	0.5			<0.01	
クローフェナピル	1	<0.02	<0.01		
クローフェンビンホス	0.2	<0.05	<0.1	<0.01	
クローベンジレート	0.02	<0.01	<0.01	<0.01	
ジメチルビンホス		<0.05	<0.02	<0.01	
シラフルオフェン	0.05	<0.05	<0.05		
ダイアジノン	0.1	<0.05	<0.05	<0.01	
チオメト	0.3			<0.01	
テブフェンピラド	0.5	<0.1	<0.1	<0.01	
テフルトリン		<0.01	<0.01	<0.01	
デルタメトリン及びトラロメトリン	0.5	<0.1	<0.1	<0.05	
テルブホス	0.005	未定量	未定量	<0.005	
パラチオン	0.3	<0.1	<0.1	<0.01	
パラチオンメチル	0.2	<0.1	<0.05	<0.01	
ハルフェンプロックス		<0.02	<0.05	未定量	
ピテルタノール	0.5	<0.1	<0.05	<0.01	
ピラクロホス	0.1	<0.1	<0.1	<0.01	
ピリダフェンチオン	0.03	<0.1	<0.1		
ピリダベン	1.0	<0.01	<0.02	<0.01	
ピリプロキシフェン	1	<0.02	<0.02	<0.01	
ピリミジフェン		<0.1	<0.05	<0.01	
ピリミホスメチル	2.0	<0.02	<0.05	<0.01	
フェニトロチオン	0.2	<0.05	<0.1	<0.01	
フェンチオン	3			<0.01	
フェンバレレート	0.20	<0.05	<0.1	<0.01	
ブプロフェジン	1	<0.05	<0.05		
フルシトリネート	1.0	<0.1	<0.1	<0.01	

G C / M S					
農薬名	類	基準	H19	H20	H21
EPTC	除草剤	0.1			<0.01
エスプロカルブ			<0.01	<0.02	<0.01
クロープロファミ		0.05	<0.05	<0.05	<0.01
ジメチピン		0.04			<0.01
チオベンカルブ		0.2	<0.01	<0.02	<0.01
テニルクロール			<0.02	<0.02	<0.01
ブチレート					<0.01
プレチラクロール			<0.05	<0.05	<0.01
ペンディメタリン			<0.05	<0.05	<0.01
ペンプレセート			<0.01	<0.01	<0.01
メトラクロール		0.05	<0.01	<0.01	<0.01
メフェナセット			<0.1	<0.05	<0.01
レナシル		0.3	<0.02	<0.02	<0.01
バクプロトラゾール		成	<0.05	<0.05	<0.01

L C / M S / M S

農薬名	類	基準	H19	H20	H21
アゾキシストロピン	殺菌剤	1	<0.02		L <0.01
イナベンフィド			<0.05		
イマザリル		0.5	未定量		L <0.01
カルプロバミド		0.1	<0.01		L <0.01
シプロジニル		0.5	<0.01		L <0.01
シメコナゾール		0.5	<0.01		L <0.01
ジメチリモール		0.2	<0.02		L <0.01
トリアジメノール		0.5	<0.1	<0.1	G <0.01
トリクラミド		0.2	<0.05		
トリフルミゾール		1.0	<0.02		
プロビコナゾール		0.05	<0.01	<0.1	G <0.01
ペンシクロン		1	<0.01		
アセフェート		5.0	<0.02	<0.5	L 未定量
アルジカルブ		0.05	未定量		
イミダクロプリド	1	<0.01		L <0.01	
インドキサカルブ	0.5	<0.05		L <0.01	
エトリムホス	0.1	<0.01	<0.05	G <0.01	
オキサミル	2.0	<0.01		L <0.01	
カルバリル	3	<0.01	<0.05	L <0.01	
クロマフェンジド	1	<0.01		L <0.01	
クローピリホス	0.05	<0.02	<0.05	G <0.01	
シクロプロトリン	0.02	<0.05			
シハロトリン	0.5	<0.05	<0.05	G <0.01	
シフルトリン	2.0	<0.1	<0.5	G <0.01	
シペルメトリン	0.5	<0.02	<0.2	G <0.01	
チアクロプリド	1	<0.05		L <0.01	
チアマトキサム	0.5	<0.05		L <0.01	
ピリミカーブ	2.0	<0.01	<0.02	L <0.01	
フェノブカルブ	1.5	<0.01	<0.01	G <0.01	
フェンスルホチオン		<0.01	<0.05	G <0.01	
フェントエート	0.1	<0.01	<0.02	G <0.01	
フェンピロキシメート	0.5	<0.01			
フルバリネート	1.0	<0.05	<0.1	G 未定量	
ヘキシチアゾクス	1	<0.05		L <0.01	
ペルメトリン	0.5	<0.01	<0.1	G 未定量	
ペンダイオカルブ		<0.01	<0.05	L <0.01	
ホキシム	0.02	<0.01			
メソミル*		<0.01		L <0.01	
メタミドホス	1.0	<0.02	<0.5	L 未定量	
メチオカルブ	0.05	<0.01	<0.05	L <0.01	
ナプロアニリド	除草剤		<0.01	L <0.01	
ペンスリド		0.1	<0.01		
リニューロン		0.2	<0.01		L <0.01

1) 試料はキュウリ、単位はmg/kg

プロチオホス		<0.05	<0.05	<0.01	2) "成"は成長調整剤 3) 空白は測定対象外 4) 未定量は設定回収率を満たさず定量を行わなかった 5) H21、"G"はGC/MS、"L"はLC/MS/MSによる測定
ホサロン	0.5	<0.05	<0.05	<0.01	
ホスチアゼート	0.2	<0.1	<0.2	<0.01	
マラチオン	0.5	<0.02	<0.02	<0.01	

