

## 自動前処理装置を用いた加工食品中の残留農薬抽出法の検討

高宮 真美・中村 秋香<sup>\*1)</sup>・宅間 範雄・西森 一誠

Examination of pesticide residue extraction method in processed food by automatic preparation equipment

Masami TAKAMIYA, Akika NAKAMURA,  
Norio TAKUMA, Kazuo NISHIMORI

**【要旨】** 食品中の残留農薬試験について、迅速化及び正確性の向上を図るため、抽出操作に「QuEChERS法」、精製操作に「固相カートリッジ法」を用いた自動前処理装置による一斉分析法を平成21年度から導入した。

県内に流通する野菜について妥当性評価試験を実施した結果、GC/MS分析対象農薬112成分、LC/MS/MS分析対象農薬86成分のうち約8割の成分が本法により測定可能であった。

県民のニーズが高い加工食品についても本法を用いた妥当性評価試験を実施するにあたり、抽出時におけるサンプル中の水分量、抽出溶媒のヘキサン量及びアセトニトリル量について検討した。GC/MSでは、水分量による変化は見られず、ヘキサン量が増えるほど回収率が低下し、アセトニトリル量を増やすと回収率が上昇した。LC/MS/MSでは、水分量が少ないと高回収率となり、ヘキサン量、アセトニトリル量ともに特徴的な傾向は見られなかった。

Key words : 加工食品、残留農薬、自動前処理、QuEChERS法、GC/MS、LC/MS/MS processed foods, pesticide residues, automatic preparation equipment, QuEChERS method, GC/MS, LC/MS/MS

### I はじめに

平成19年12月に発生した中国産冷凍餃子や20年10月の中国産冷凍インゲンの有機リン系農薬による健康被害事件などを背景として、高知県でも加工食品中の残留農薬検査についてのニーズが高まり、迅速かつ正確な試験検査が求められている。

残留農薬検査について、当所では抽出操作に「QuEChERS法」、精製操作に「固相カートリッジ法」を用いた自動前処理装置による一斉分析法を平成21年度から導入し、検査の迅速化及び正確性の向上を図っている。

本法については、県内に流通する4種の野菜を用いて妥当性評価試験を実施し、各野菜で対象農薬の約8割の成分が分析可能であることを確認した<sup>1)</sup>。

本法による加工食品中の残留農薬一斉分析法の妥当

性評価試験を実施するにあたり抽出溶媒等の検討を行ったので、これらの経過をまとめ、記録し、今後の残留農薬検査業務の参考とする。

### II 検査方法

#### 1 試料

市販の冷凍餃子を用いた。

#### 2 対象農薬

GC/MS対象農薬：クレソキシムメチル、クロルピリホス、ジエトフェンカルブ

LC/MS/MS対象農薬：イミダクロプリド、クレソキシムメチル、クロルピリホス、ジエトフェンカルブ、ジメトエート

\*1) 高知県安芸福祉保健所

### 3 試薬

農薬標準品：混合標準液（林純薬工業株式会社）、フェナントレン-d体（関東化学株式会社）

固相カートリッジ及び試薬：

著者ら<sup>1)</sup>の報告に示した。

### 4 装置

著者ら<sup>1)</sup>の報告に示した。

### 5 分析条件

著者ら<sup>1)</sup>の報告に示した。

### 6 検量線

標準溶液を溶媒で希釈し、20、50、100、200ppbの4点を調製した。GC/MS用の標準液については、各検量線系列に1ppmフェナントレン-d体と0.1%ポリエチレングリコール(300)のアセトン溶液を1mLあたり20 $\mu$ Lとなるように添加した。試験溶液については、得られたクロマトグラムのピーク面積から絶対検量線法により定量した。

### 7 試料の調製

冷凍餃子を半解凍後、フードプロセッサで細切均一化した後、添加濃度がイミダクロプリド160ng/g、クレスキシムメチル90ng/g、クロルピリホス110ng/g、ジエトフェンカルブ70ng/g、ジメトエート120ng/gとなるよう農薬を添加、攪拌混合し調製された試料(外部精度管理調製試料)を用いた<sup>2)</sup>。

### 8 試験溶液の調製

#### 8.1 抽出

均質化した試料10gを秤量し、図1のとおりアセトニトリルで抽出した。

本研究では、試料に添加する水、ヘキサン、アセトニトリルについて、9 検討内容 に示すとおり、条件を変えて抽出した。

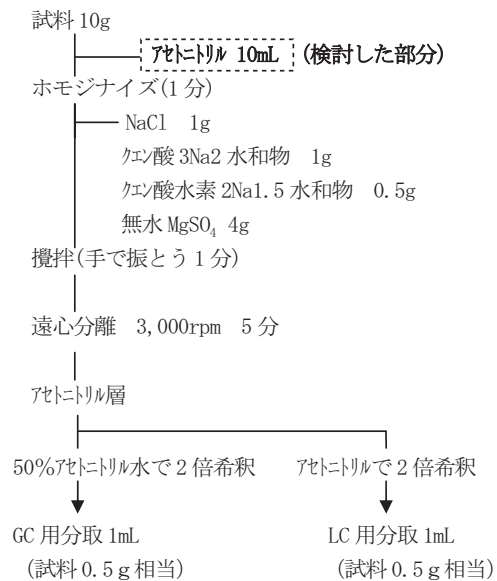


図1 試験溶液の抽出フロー図

#### 8.2 自動前処理工程

抽出後、分取した各1mLを自動前処理装置にて、GC法は図2、LC法は図3のとおり、固相カートリッジ Smart-SPE C18-50、PSA-30で精製した。

GC法は、溶出液に1ppmフェナントレンd体と0.1%ポリエチレングリコール(300)のアセトン溶液を20 $\mu$ L加えた後、アセトン/ヘキサン(15/85)で1mLに定容し、GC/MS試験溶液とした。

LC法は、溶出液を水で4mLに定容し、LC/MS/MS試験溶液とした。

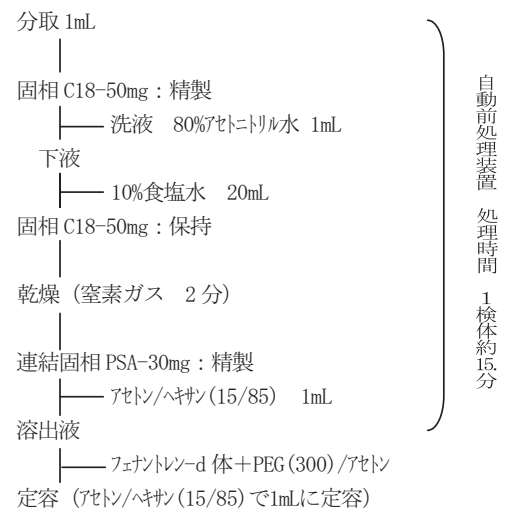


図2 GC法試験溶液の精製フロー図

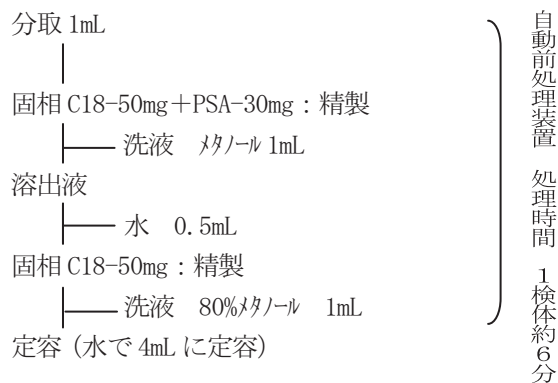


図3 LC法試験溶液の精製フロー図

## 9 検討内容

### 1. 水の添加量

抽出時の水分量による影響をみるため、アセトニトリル10mLを添加する前に、試料に添加する水の量0mL、5mLについて検討した。LC/MS/MS用試験溶液については、2mL、4mLについても追加検討した。

### 2. ヘキサン添加量

抽出溶媒がアセトニトリルのみでは、試料の脂質に取り込まれた農薬の抽出が不十分ではないかと考え、抽出溶媒に添加するヘキサンの影響をみるため、アセトニトリル10mLと同時に添加するヘキサンの量0mL、2mL(1/5量)、2.5mL(1/4量)、5mL(1/2量)について検討した。

### 3. アセトニトリル量

試料に対する抽出溶媒量の影響をみるため、試料5gに対し添加するアセトニトリルの量5mL(1倍量)、10mL(2倍量)、15mL(3倍量)、20mL(4倍量)について検討した。

50mLのコニカルチューブでは、アセトニトリル添加量が増加すると十分ホモジナイズできないため、試料を5gにスケールダウンして検討した。

## Ⅲ 結果及び考察

### 1. 水の添加量

水の添加量ごとの遠心分離後の状態を図4に、回収率を表1に示した。

GC/MSでは、大きな変化が見られなかった。

LC/MS/MSでは水分量が0mLだと高回収率となり、水の添加量とともに回収率が減少した。

通常、本法で試験を実施するにあたっては、食品標準成分表<sup>3)</sup>により検査対象品目の水分量を確認し、水分量が約100%となるよう、適宜水の添加を行っている。

本試料については、見かけ上、水分量があるように見え、水の添加がなくてもアセトニトリルのみでホモジナイズができていたが、分析結果はLC/MS/MSでの定量値が添加量を超え、特に高極性農薬では120%を超える回収率となった。

食品標準成分表によると、冷凍餃子は可食部100gあたり水分59.3gとなっているが、メーカーによっては冷凍餃子の組成も違うため、試料について常圧加熱乾燥法により水分量を測定した結果、試料中の水分量は62.1%であった。

試験検体中の水分量により影響を受けるLC/MS/MSについて、更に2mLと4mLの項目を増やし検討した。2mLと4mLでは大きな差はなかったものの、試料の水分量が62.1%であったことから4mL添加が妥当であると考えた。

これらの結果から、LC/MS/MSにおいては、精製工程で除去しきれない水溶性の夾雑物を抽出段階で除去しておく必要があると考えられ、今後は成分表を参考にしながら添加する水分量を決定、または、必要に応じて試料の水分量を測定し添加量を決定することとした。

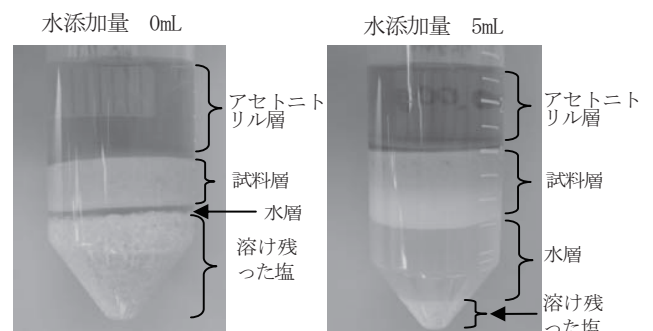


図4 遠心分離後の状態 (水の添加量)

表1 水の添加量による回収率

| 化合物名      | 添加濃度 (ppb) | 水添加量 (mL) | GC/MS     |         | LC/MS/MS  |         |
|-----------|------------|-----------|-----------|---------|-----------|---------|
|           |            |           | 測定値 (ppb) | 回収率 (%) | 測定値 (ppb) | 回収率 (%) |
| ジメトエート    | 120        | 0         | —         | —       | 155.0     | 129     |
|           |            | 2         | —         | —       | 105.2     | 88      |
|           |            | 4         | —         | —       | 109.0     | 91      |
|           |            | 5         | —         | —       | 89.5      | 75      |
| クロルピリホス   | 110        | 0         | 82.5      | 75      | 126.3     | 115     |
|           |            | 2         | —         | —       | 84.2      | 77      |
|           |            | 4         | —         | —       | 87.4      | 79      |
|           |            | 5         | 83.6      | 76      | 72.4      | 66      |
| ジエトフェンカルブ | 70         | 0         | 59.3      | 85      | 72.7      | 104     |
|           |            | 2         | —         | —       | 41.9      | 60      |
|           |            | 4         | —         | —       | 44.3      | 63      |
|           |            | 5         | 59.9      | 86      | 40.1      | 57      |
| クレキシムエチル  | 90         | 0         | 69.6      | 77      | 107.2     | 119     |
|           |            | 2         | —         | —       | 76.8      | 85      |
|           |            | 4         | —         | —       | 72.2      | 80      |
|           |            | 5         | 74.1      | 82      | 68.0      | 76      |
| イミダクロープリド | 160        | 0         | —         | —       | 196.7     | 123     |
|           |            | 2         | —         | —       | 143.1     | 89      |
|           |            | 4         | —         | —       | 147.1     | 92      |
|           |            | 5         | —         | —       | 123.5     | 77      |

表2 ヘキサン添加量による回収率

| 化合物名      | 添加濃度 (ppb) | ヘキサン添加量 (mL) (ヘキサン:アセト) | GC/MS     |         | LC/MS/MS  |         |
|-----------|------------|-------------------------|-----------|---------|-----------|---------|
|           |            |                         | 測定値 (ppb) | 回収率 (%) | 測定値 (ppb) | 回収率 (%) |
| ジメトエート    | 120        | 0(1:0)                  | —         | —       | 108.0     | 90      |
|           |            | 2(1:5)                  | —         | —       | 152.3     | 127     |
|           |            | 2.5(1:4)                | —         | —       | 117.9     | 98      |
|           |            | 5(1:2)                  | —         | —       | 102.7     | 86      |
| クロルピリホス   | 110        | 0(1:0)                  | 89.0      | 81      | 90.0      | 82      |
|           |            | 2(1:5)                  | 81.0      | 74      | 97.9      | 89      |
|           |            | 2.5(1:4)                | 77.7      | 71      | 99.8      | 91      |
|           |            | 5(1:2)                  | 67.3      | 61      | 67.2      | 61      |
| ジエトフェンカルブ | 70         | 0(1:0)                  | 63.8      | 91      | 54.7      | 78      |
|           |            | 2(1:5)                  | 66.4      | 95      | 65.6      | 94      |
|           |            | 2.5(1:4)                | 65.1      | 93      | 59.4      | 85      |
|           |            | 5(1:2)                  | 60.7      | 87      | 44.3      | 63      |
| クレキシムエチル  | 90         | 0(1:0)                  | 79.6      | 88      | 74.4      | 83      |
|           |            | 2(1:5)                  | 77.1      | 86      | 89.9      | 100     |
|           |            | 2.5(1:4)                | 74.5      | 83      | 74.8      | 83      |
|           |            | 5(1:2)                  | 70.5      | 78      | 52.3      | 58      |
| イミダクロープリド | 160        | 0(1:0)                  | —         | —       | 138.0     | 86      |
|           |            | 2(1:5)                  | —         | —       | 179.5     | 112     |
|           |            | 2.5(1:4)                | —         | —       | 162.4     | 102     |
|           |            | 5(1:2)                  | —         | —       | 131.5     | 82      |

## 2. ヘキサンの添加量

ヘキサン添加量ごとの遠心分離後の状態を図5に、回収率を表2に示した。

GC/MSでは、アセトニトリルに対するヘキサン添加の割合が増えるとともに回収率が低下した。ヘキサン量の増加に伴い、アセトニトリル中の低極性農薬がヘキサン層に分配されたためと考えられた。

LC/MS/MSでは、特徴的な傾向が見られなかった。

これらの結果から、抽出はヘキサンを添加せず、アセトニトリルのみで実施することとした。

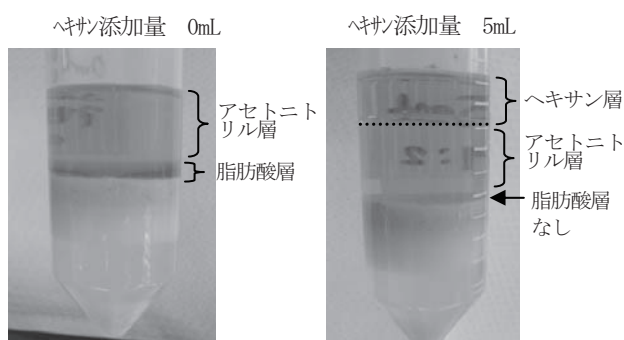


図5 遠心分離後の状態 (ヘキサン添加量)

## 3. アセトニトリルの量

抽出するアセトニトリルの量ごとの遠心分離後の状態を図6に、回収率を表3に示した。

GC/MSでは、試料に対するアセトニトリル量の割合が増加するとともに回収率も上昇した。抽出する溶媒量が多いほど、水層中の低極性農薬を多く抽出できたと考えられた。

LC/MS/MSでは、特徴的な傾向が見られなかった。

GC/MSの結果から、抽出溶媒の増量が望ましいと考えられたが、そのためには試料を5gにスケールダウンする必要があり、サンプリングの誤差の問題、LC/MS/MSで大きな効果が見られないこと、試料と同量のアセトニトリルでも妥当性評価における真度(回収率)の目標値70-120%を満足する値であることから、通常どおり試料10gに対し、アセトニトリル量10mLで実施することとした。

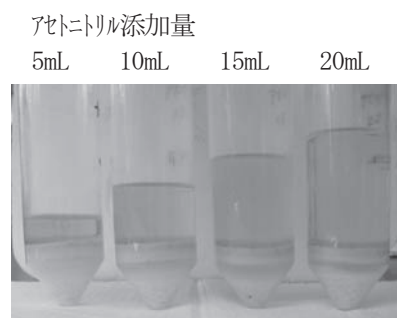


図6 遠心分離後の状態 (アセトニトリル添加量)

表3 アセトニトリル添加量による回収率

| 化合物名      | 添加濃度 (ppb) | アセトニトリル添加量 (mL) | GC/MS     |         | LC/MS/MS  |         |
|-----------|------------|-----------------|-----------|---------|-----------|---------|
|           |            |                 | 測定値 (ppb) | 回収率 (%) | 測定値 (ppb) | 回収率 (%) |
| ジメトエート    | 120        | 5               | /         | /       | 121.0     | 101     |
|           |            | 10              | /         | /       | 137.0     | 114     |
|           |            | 15              | /         | /       | 130.0     | 108     |
|           |            | 20              | /         | /       | 118.4     | 99      |
| クロルピリホス   | 110        | 5               | 77.6      | 71      | 101.3     | 92      |
|           |            | 10              | 92.3      | 84      | 131.6     | 120     |
|           |            | 15              | 95.2      | 87      | 139.0     | 126     |
|           |            | 20              | 95.6      | 87      | 133.1     | 121     |
| ジエトフェンカルブ | 70         | 5               | 57.5      | 82      | 76.1      | 109     |
|           |            | 10              | 68.7      | 98      | 85.5      | 122     |
|           |            | 15              | 74.1      | 106     | 85.4      | 122     |
|           |            | 20              | 80.7      | 115     | 80.0      | 114     |
| クレゾキシムエチル | 90         | 5               | 66.5      | 74      | 89.6      | 100     |
|           |            | 10              | 75.7      | 84      | 111.1     | 123     |
|           |            | 15              | 79.8      | 89      | 97.0      | 108     |
|           |            | 20              | 82.1      | 91      | 95.2      | 106     |
| イミダクロプリド  | 160        | 5               | /         | /       | 143.3     | 90      |
|           |            | 10              | /         | /       | 170.4     | 107     |
|           |            | 15              | /         | /       | 175.7     | 110     |
|           |            | 20              | /         | /       | 159.7     | 100     |

#### IV まとめ

自動前処理装置を用いた加工食品中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価試験を実施するにあたり、抽出条件の検討を行った。

その結果、抽出工程において、LC/MS/MSでは水溶性夾雑物の除去のため、水分量が約100%となるよう水の添加が必要であること、GC/MSでは、水分量による影響よりも、抽出溶媒へのヘキササン添加による回収率低下、試料に対する溶媒量の増加による回収率上昇といった溶媒による影響を受けることがわかった。

本研究では、厚生労働科学研究「食品中に含まれる微量農薬の分析法と精度管理体制の構築に関する研究」で調製された外部精度管理調製試料を用いたため、分析対象農薬がごくわずかな成分数となったが、農産物の妥当性評価と同様の条件<sup>1)</sup>でも分析可能であることが判明したため、今後、農薬の種類を拡大し加工食品における妥当性評価試験を実施していきたい。

#### 謝辞

本研究にあたり、試料提供などのご協力をいただいた大阪府立公衆衛生研究所 尾花裕孝氏、起橋雅浩氏に深く感謝します。

#### 文献

- 1) 高宮真美ら：自動前処理装置を用いた農産物中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価. 高知衛研報. 57, 47 - 64
- 2) 尾花裕孝ら：食品中に含まれる微量農薬の分析法と精度管理体制の構築に関する研究. 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）「検査機関の信頼性確保に関する研究」総括・分担報告書. 平成22年度. 25 - 71
- 3) 五訂増補日本食品標準成分表. 2005