

## フー注

# 加工食品中残留有機リン系農薬の 一斉分析法の検討

大垣有紀, 川合啓之, 林 克弘, 林崎由美子, 山中葉子, 志村恭子

## Examination of Determination of Residual Organophosphorus Pesticides in Processed Foods

Yuki OHGAKI, Hiroyuki KAWAI, Katsuhiko HAYASHI  
Yumiko HAYASHIZAKI, Yoko YAMANAKA, and Kyoko SHIMURA

2008 年 1 月, 千葉県および兵庫県において中国産冷凍ギョウザから有機リン系農薬メタミドホスが検出されたという報道があった。これに伴い県内での苦情品検査対応のため加工食品中残留農薬の分析法が必要となり, 加工食品からの有機リン系農薬 20 種の一斉分析法を検討した。その結果, 抽出液のクリーンアップ法として, ゲル浸透クロマトグラフ法<sup>1)</sup>が有効であった。検体 10g に 20 種農薬混合標準溶液 1 $\mu$ g/mL を 1mL 加え (試料濃度 0.1ppm) 回収実験を行ったところ, いずれの農薬も回収率 80% 以上の良好な結果であった。この分析法を用いて各保健所から搬入された苦情品 19 検体を分析した結果, いずれも農薬は検出されなかった。

キーワード: 加工食品, 冷凍ギョウザ, 有機リン系農薬, メタミドホス

### はじめに

近年, BSE 問題や食品虚偽表示問題が発生し, 消費者の食の安全に対する関心が高まっている。本県では, 2003 年に「食の安全・安心確保基本方針」を策定し, この方針に基づき 2007 年度から 2010 年度までの「県民しあわせプラン第二次戦略計画」において, 引き続き食に対する信頼感を高めるための取り組みを強化している。

このような中, 2008 年 1 月に千葉県, 兵庫県において中国産冷凍ギョウザを摂食した一家に有機リン中毒症状が見られ, 包装材および嘔吐物中のギョウザから有機リン系殺虫剤のメタミドホスが検出されたという報道があった。この影響を受け, 県内でも健康被害を懸念する苦情, 申し出が多数あり, 県健康福祉部健康危機管理室から当研究所に対し加工食品に関する有機リン系農薬分析の依頼がなされた。

当研究所では以前よりゲル浸透クロマトグラ

フ法 (GPC) を用いた方法で野菜, 果実, 牛乳中の残留農薬一斉分析を行っている<sup>1) ~ 4)</sup>。この方法を適用して加工食品の分析を検討したので, その詳細を報告する。

### 実験方法

#### 1. 試料

市販されている冷凍加工食品 4 種 (ギョウザ, ロールキャベツ, コロッケ, 春巻き) を用いた。

#### 2. 試薬

##### 1) 農薬標準品

エトプロホス, ジクロロホス (DDVP), ダイアジノン, テルブホス, トリクロホスメチル, パラチオン, ピラクロホス, フェントエート, ブタミホス, プロチオホス, ホサロン, ホスメット, ホレート, メタミドホス, メチダチオンおよび EPN は和光純薬工業(株)製残留農薬試験用標準試薬を用いた。

カズサホスは林純薬工業(株)製残留農薬試験用標準試薬を用いた。

パラチオンメチル，フェンスルホチオン，馬拉チオンは関東化学(株)製残留農薬試験用標準試薬を用いた。

## 2) 有機溶媒

n-ヘキサン，アセトンおよびジクロロメタンは関東化学(株)製残留農薬試験用，酢酸エチルは和光純薬工業(株)製残留農薬試験用，シクロヘキサンは関東化学(株)製高速液体クロマトグラフ用を用いた。ジエチレングリコールはナカライテスク(株)製特級を用いた。

## 3) その他の試薬

無水硫酸ナトリウムは関東化学(株)製残留農薬試験用を用いた。

## 4) 農薬混合標準溶液

20種農薬の原標準液（各200 $\mu$ g/mLのアセトン溶液）各々の適量を採り合一したのち，農薬濃度10 $\mu$ g/mLとなるようにアセトンで希釈した。必要に応じてこれをさらにアセトンで希釈して用いた。

## 3. 装置および測定条件

### 1) FPD(P)-GC

ガスクロマトグラフ：(株)島津製作所製 GC-17A

検出器：FPD(P)

キャピラリーカラム：Agilent 社製 DB-1701 0.32mm i.d.  $\times$  30m, 膜厚 0.25 $\mu$ m

カラム槽温度：60 (2min) 25 / min 150 2.5 / min 200 10 / min 270 (15min)

注入口温度：250

検出器温度：250

キャリアガス：He

メイクアップガス：N<sub>2</sub>

検出器水素流量：100mL/min

検出器空気流量：100mL/min

注入量：1 $\mu$ L(Splitless)

### 2) GPC

既報<sup>1)</sup>と同様のものを用いた。

## 4. 試験溶液の調製法

既報<sup>3)</sup>の方法を参考に，以下のとおり調製した。

試料 10g を採取し，アセトン・酢酸エチル・n-ヘキサン (2:9:9, v/v/v) の混合溶媒 150mL および無水硫酸ナトリウム 150g を加えてホモジナイズ (5000rpm, 5min) したのち，ろ紙 (アドバンテック No.5C) で吸引ろ過した。容器および残渣をア

セトン・酢酸エチル・n-ヘキサン (2:9:9, v/v/v) 約 30mL で 3 回洗浄し，その洗浄液も吸引ろ過した。先のろ液と合一し，40 の水浴中で溶媒を減圧除去した。残留物にジクロロメタン・シクロヘキサン (1:1, v/v) を加えて溶かし，正確に 5mL としたのち，遠心分離 (3500rpm, 10min) した。(ただし残留物が多い場合 10mL とした。) その上澄液 4mL を GPC 装置に正確に注入し，85~160mL の溶出画分を分取した。(10mL とした場合，4mL を注入する操作を 2 回繰り返し，溶出液を合一した。) この画分に 1%ジエチレングリコールアセトン溶液 1mL を加えて約 1mL まで減圧濃縮し，アセトン約 30mL を加えて同様に濃縮したのち，アセトンを加えて正確に 4mL としたものを試験溶液とした。以上の操作法を図 1 に示した。

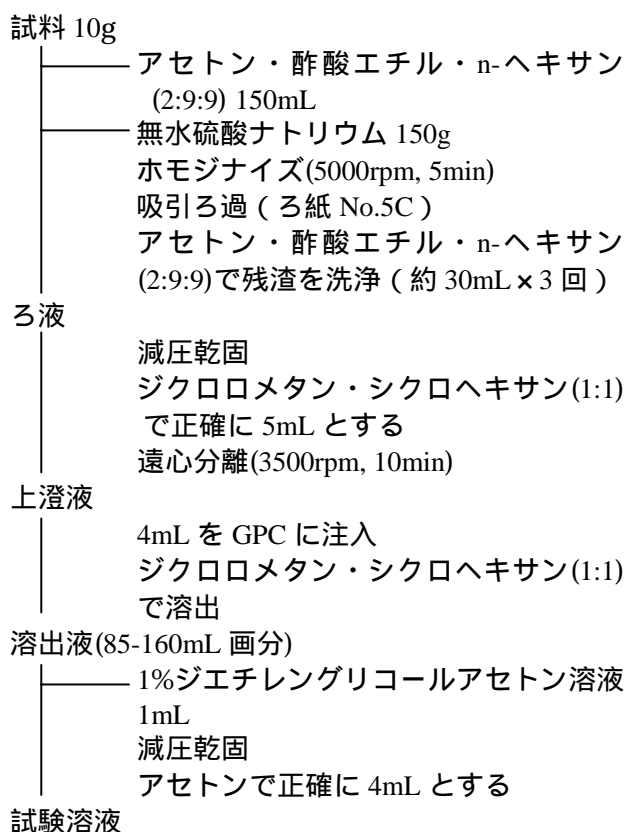


図 1 残留有機リン系農薬の一斉分析法

## 5. 添加回収実験

試料 10g を採取し，農薬混合標準溶液 1 $\mu$ g/mL を 1mL 加え，以降，4. 試験溶液の調製法に従って操作したものを添加回収実験の試験溶液とした。

表1 有機リン系農薬の保持時間，検量線の直線性および検出限界

	保持時間 (min)	濃度範囲 ( $\mu\text{g/mL}$ )	相関係数	検出限界		報告下限
				( $\mu\text{g/mL}$ )	(ppm)	(ppm)
ジクロロボス	8.00	0.02-0.2	0.9999	0.005	0.0025	0.01
メタミドホス	9.29	0.02-0.2	0.9956	0.005	0.0025	0.01
エトプロホス	15.27	0.02-0.2	1.0000	0.005	0.0025	0.005
カズサホス	16.15	0.02-0.2	0.9999	0.005	0.0025	0.01
ホレート	16.75	0.02-0.2	0.9999	0.005	0.0025	0.01
テルブホス	18.95	0.02-0.2	1.0000	0.005	0.0025	0.005
ダイアジノン	19.42	0.02-0.2	1.0000	0.005	0.0025	0.01
トリクロホスメチル	24.01	0.02-0.2	1.0000	0.005	0.0025	0.01
パラチオンメチル	26.16	0.02-0.2	0.9999	0.005	0.0025	0.01
馬拉チオン	27.33	0.02-0.2	0.9999	0.005	0.0025	0.01
パラチオン	28.27	0.02-0.2	0.9999	0.005	0.0025	0.01
フェントエート	29.24	0.02-0.2	0.9999	0.005	0.0025	0.01
プロチオホス	29.82	0.02-0.2	1.0000	0.005	0.0025	0.01
メチダチオン	30.42	0.02-0.2	0.9999	0.005	0.0025	0.01
ブタミホス	31.02	0.02-0.2	0.9998	0.005	0.0025	0.01
フェンスルホチオン	33.45	0.02-0.2	0.9998	0.005	0.0025	0.01
EPN	35.53	0.02-0.2	0.9998	0.005	0.0025	0.01
ホスメット	36.07	0.02-0.2	0.9996	0.02	0.01	0.01
ホサロン	37.35	0.02-0.2	0.9998	0.01	0.005	0.01
ピラクロホス	38.54	0.02-0.2	0.9988	0.02	0.01	0.01

## 実験結果および考察

### 1. 保持時間の確認と検量線および検出限界の検討

既報<sup>5)</sup>を参考に，測定条件により20種農薬のFPD(P)-GCによる測定を行ったところ，各農薬の保持時間から各々が良好に分離していることを確認した．表1にその結果を，図2に農薬混合標準液(0.2 $\mu\text{g/mL}$ )のクロマトグラムを示す．

次に20種農薬の直線性の確認をした．0.02~0.2 $\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲で測定を行い，検量線を作成したところ，表1に示すとおり良好な直線性を示した．また検出限界をクロマトグラム上のS/N比3とすると，0.005~0.02 $\mu\text{g/mL}$ で，試料10gに対する検出限界は0.0025~0.01ppmであった．ホスメットおよびピラクロホスの感度が最も低く，保健所への報告下限はこれらに合わせて0.01ppmとした．これはポジティブリスト制度<sup>6)</sup>の一律基準0.01ppmを満たしている．ただし，エトプロホスおよびテルブホスは農産食品の基準が0.005ppmであるため報告下限も0.005ppmとした．

### 2. GPCにおける農薬成分の溶出挙動

既報<sup>1)</sup>のGPC測定条件で，20種農薬混合標準

溶液0.4 $\mu\text{g/mL}$ を4mL注入し，溶出液85~160mLを5mL毎に分画した．各画分をFPD(P)-GCで測定し，溶出画分および溶出率を確認した．その結果，表2に示すとおり，農薬は85~145mLの範囲で溶出していることが明らかになった．なお，溶出画分は全溶出量を100%として計算した．また各農薬の85~160mL溶出画分を測定したところ(3試行)，溶出率はいずれも80%以上と良好であった．

### 3. 添加回収率

試料10gを採取し，農薬混合標準溶液1 $\mu\text{g/mL}$ を1mL加え(試料濃度0.1ppm)，以下図1に従って操作した．コロッケおよび春巻きの操作では，抽出液を減圧乾固した後の残渣に油分が多く含まれたため，ジクロロメタン・シクロヘキサン(1:1, v/v)を加えて正確に10mLとし，その上澄液4mLをGPC装置に注入する操作を2回繰り返す，溶出液を合して以降の操作を行った．このようにしてそれぞれの回収率を求めた(各3試行)．その結果，いずれもガスクロマトグラム上に妨害となるようなピークは認められず，20種農薬の回収率は，表3に示すとおりであった．ギョウザにおける添加回収実験のクロマトグラムを

表2 GPCにおける有機リン系農薬の溶出挙動

農 薬	溶出画分 (5mL 毎) (%)												溶出率 (%)	
	85-90	-95	-100	-105	-110	-115	-120	-125	-130	-135	-140	-145		
ジクロロホス				4	78	14	4							100
メタミドホス							2	14	58	22	3	1		113
エトプロホス	1	14	64	17	3	1								107
カズサホス	8	59	29	3	1									105
ホレート		2	14	46	34	3	1							100
テルブホス	1	24	61	10	3	1								101
ダイアジノン	4	46	42	5	2	1								107
トリクロホスメチル				2	25	52	17	3	1					106
パラチオンメチル					10	47	36	5	2					108
マラチオン	2	23	56	14	3	1	1							108
パラチオン			9	53	33	4	1							104
フェントエート		1	15	57	21	3	2	1						107
プロチオホス		1	13	55	25	3	1	1	1					106
メチダチオン				2	18	53	22	3	1	1				107
ブタミホス	1	11	57	25	4	1	1							102
フェンスルホチオン	1	13	59	22	4	1								102
EPN			2	22	59	14	2	1						93
ホスメット					19	57	24							84
ホサロン			5	41	48	6								96
ピラクロホス			54	41	5									95

n = 3

図2に示す。

メタミドホス、メチダチオン、ホスメット、ピラクロホス等で100%を大きく上回る回収率を示し、これらの農薬ではガスクロマトグラフ測定におけるマトリックス効果が強く現れたと考えられることから、精製方法などにさらなる工夫が必要となるが、検出の有無を確認するスクリーニングとしては有用な方法である。

#### 4. 実試料への適用

2008年1月～3月に、健康被害を申し出た中国産冷凍食品が19件搬入された。その内訳は、ギョウザ14件、にらまんじゅう1件、その他4件であった。これらの検体に対して、今回検討した試験法を用いて分析を行ったところ、いずれも対象農薬は検出されなかった。

#### まとめ

加工食品中残留有機リン系農薬20種の分析法を検討し、以下の結果を得た。

1. FPD(P)-GCによる検量線は、20種農薬いずれも0.02～0.2μg/mLの範囲で良好な直線性を示した。

2. 抽出液のクリーンアップ法として、ゲル浸透クロマトグラフ法が有効であった。

3. 試料10gに対する検出限界は、最終溶液4mLの場合、最大0.01ppmで、ポジティブリスト制度の一律基準を満たしていた。

4. 冷凍加工食品4種(ギョウザ、ロールキャベツ、コロケ、春巻き)を用いて添加回収実験を行ったところ、いずれも80%以上の良好な回収率であった。

5. 各保健所から搬入された苦情品19検体を分析した結果、いずれも農薬は検出されなかった。

今回は比較的加工度の高い食品を用いて検討を行ったが、加工食品の範囲は非常に広く多種多様であることから、特に加工度の高い食品に関しては、その都度添加回収実験を行う必要がある。

#### 文献

- 1) 小川正彦, 坂井 亨, 大熊和行, 佐藤 誠, 志村恭子, 森 善宣, 倉田英雄: ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)を用いた農産物中の残留農薬一斉分析, 三重県衛生研究所年報, No.41, 93-108 (1995)。
- 2) 小川正彦, 坂井 亨, 大熊和行, 佐藤 誠,

表3 加工食品からの有機リン系農薬の添加回収率

農 薬	ギョウザ(%)		ロールキャベツ (%)		コロッケ(%)		春巻き(%)	
	回収率	CV	回収率	CV	回収率	CV	回収率	CV
ジクロロボス	100	2.03	118	6.17	117	2.55	101	12.75
メタミドホス	131	4.95	158	4.92	156	6.07	137	4.69
エトプロホス	106	2.97	118	3.73	111	2.93	109	4.32
カズサホス	98	2.63	110	3.24	104	2.39	106	4.34
ホレート	85	3.95	81	3.99	108	2.18	104	4.39
テルブホス	91	3.06	91	2.61	105	1.73	103	4.52
ダイアジノン	97	3.41	106	2.94	105	2.33	105	4.46
トリクロホスメチル	99	3.80	108	3.13	112	2.92	107	3.92
パラチオンメチル	106	3.42	120	2.60	122	3.10	117	5.62
マラチオン	104	3.32	116	3.01	115	1.42	114	4.49
パラチオン	99	3.51	112	3.45	108	3.00	103	4.82
フェントエート	104	3.12	114	2.61	111	2.59	110	4.66
プロチオホス	99	3.20	107	1.75	102	2.26	104	4.26
メチダチオン	119	4.03	132	2.12	135	4.16	133	4.10
ブタミホス	98	3.09	107	2.84	104	1.57	102	4.68
フェンスルホチオン	117	2.74	128	2.53	124	1.76	126	4.84
EPN	103	5.64	114	3.09	107	1.26	111	3.92
ホスメット	157	4.22	164	1.11	198	3.07	200	10.76
ホサロン	116	3.04	127	3.83	129	2.17	139	6.87
ピラクロホス	157	3.64	170	3.23	232	9.04	250	12.42

n = 3

志村恭子：GPC および GC/MS-SIM を用いた農産物中残留農薬の迅速一斉分析（第2報），三重県衛生研究所年報，No.42，83-94(1996)。

- 3) 坂井 亨,小川正彦,大熊和行,佐藤 誠,志村恭子：GC/MS-SIM および PDA-HPLC を用いた農産物中残留農薬の迅速系統分析，三重県衛生研究所年報，No.42，95-110(1996)。
- 4) 大熊和行,阪本晶子,小川正彦,別所敬子,佐藤 誠,志村恭子：脱水抽出法を応用した牛乳中残留有機塩素系農薬の簡易迅速分析法,三重県衛生研究所年報(衛生部門), No.44, 37-42(1999)。
- 5) 阪本晶子,小川正彦,大熊和行,別所敬子,佐藤 誠,志村恭子：有機リン系および有機イオウ系農薬の FPD-GC による測定,三重県衛生研究所年報(衛生部門), No.44, 75-86(1999)。
- 6) 厚生労働省告示：食品中に残留する農薬等のポジティブリスト制度について，第497号，2005年11月29日。

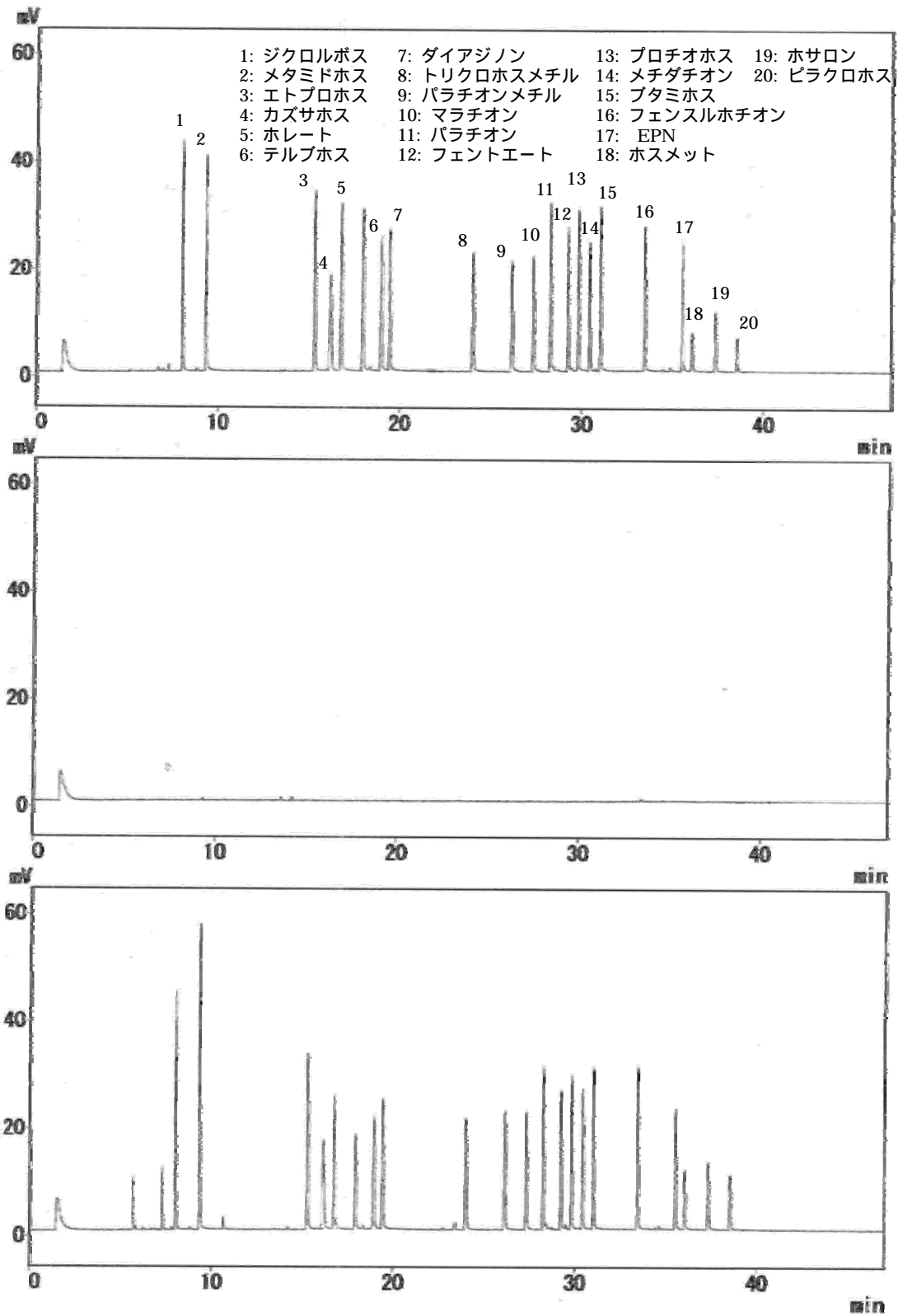


図2 農薬標準溶液および試験溶液のクロマトグラム

(上から順に 20 種農薬混合標準液 (0.2 $\mu$ g/mL), ギョウザブランク, ギョウザ標準添加)