

柑橘類の残留農薬多成分一斉分析法に関する検討

○立原幹子、吉岡健、櫻井正晃、岡崎千里、石井崇司¹、青木和子²、湯浅全世

¹現：古河保健所、²現：つくば保健所

要旨

残留農薬の多成分一斉分析において、迅速化及び簡略化を目的に QuEChERS 法を取り入れた迅速分析法を検討した。柑橘類を対象とした妥当性評価試験では、対象農薬のうち 70～80%が適合となる結果が得られた。迅速分析法では、従来の試験法に比べ作業時間を 1/2、有機溶媒使用量を 1/3、ガラス器具の使用個数を 1/5 に低減することができた。

キーワード：残留農薬、多成分一斉分析法、迅速分析法、QuEChERS 法、柑橘類

はじめに

当所では、食品中に残留する農薬の一斉試験法として、厚生労働省通知「GC/MS による農薬等の一斉分析法（農産物）」¹⁾により示された試験法（以下「通知試験法」という）に準拠した分析法で試験を行っている。しかし、通知試験法は操作が煩雑であるため多くの時間を要し、さらに溶媒の使用量が多いという問題がある。

そこで、迅速分析法のひとつである QuEChERS 法を取り入れた残留農薬多成分一斉分析法の検討を行い、柑橘類を用いて妥当性評価試験を実施したので、その結果を報告する。

実験方法

1. 試料

オレンジ、グレープフルーツ、レモン

2. 農薬標準物質、内部標準物質

林純薬工業（株）製の混合標準液 PL2005 農薬 GC/MS MixI～III及び PL 農薬サロゲート混合標準溶液I(10 種類混合)を用い、148 農薬を測定対象とした。

3. 試験溶液の調製

以下の 3 通りの方法で調製した。

前処理I（準 AOAC 法）：QuEChERS 法の AOAC 法(AOAC 2007.01.1)に準じて調製した。

前処理II（改 AOAC 法）：抽出・塩析・脱水は前処理Iと同様に行い、精製に固相カラムを用いた。

前処理III（改 EN 法）：抽出・塩析・脱水は、QuEChERS 法の EN 法(EN15662:2008)に準じ、精製に固相カラムを用いた。

表 1 に前処理の概要を示す。

表 1 前処理の概要

| | 前処理 I (準AOAC法) | 前処理 II (改AOAC法) | 前処理 III (改EN法) |
|---------|---|--|--|
| 試料 | 15.0g | 15.0g | 10.0g |
| 抽出※1 | 1%酢酸アセトニトリルで振とう | 1%酢酸アセトニトリルで振とう | アセトニトリルで振とう |
| 塩析・脱水※2 | MgSO ₄ 6g 酢酸Na 1.5g | MgSO ₄ 6g 酢酸Na 1.5g | MgSO ₄ 4g NaCl 1g クエン酸Na 1g クエン酸二Na1.5水和物 0.5g |
| 精製 | 分散固相※1※3 PSA 400mg GC 400mg C ₁₈ 400mg MgSO ₄ 1200mg ホモジナイザー使用 | 固相カラム※4 GC 500mg NH ₂ 500mg | 固相カラム※4 GC 500mg NH ₂ 500mg |

※1 攪拌にセラミックホモジナイザーを使用(アジレント・テクノロジー(株)製)

※2 Bond Elut QuEChERS抽出キットを使用(アジレント・テクノロジー(株)製)

※3 Bond Elut QuEChERS分散SPEキットを使用(アジレント・テクノロジー(株)製)

※4 GL-Pak GC/NH₂(ジーエルサイエンス(株)製)

4. 検量線の作成

農薬混合標準液の濃度が 5、10、50、100、150、200ppb、サロゲート物質（内部標準として 9 種使用）の濃度が 25ppb となるように 0.02%PEG300 を含むアセトン：ヘキサン(1:1) 溶液で希釈し、内部標準検量線とした。

5. 装置及び測定条件

表 2 に示した。

表 2 装置及び測定条件

| | |
|-------------|--|
| GC条件 | |
| 装置: | TRACE GC Ultra(Thermo Fisher Scientifics製) |
| カラム: | TR-PESTICIDE(0.25mm×30m 膜厚0.2μm) (Thermo Fisher Scientifics製) |
| キャリアガス: | ヘリウム(1.0mL/min) |
| 注入口温度: | 240℃ |
| カラム昇温: | 50℃(1min)→25℃/min→125℃(0min) →10℃/min→300℃(10min) |
| 注入量: | 2μL |
| 注入方法: | スプリットレス |
| トランスファーライン: | 280℃ |
| MS条件 | |
| 装置: | TSQ Quantum(Thermo Fisher Scientific製) |
| イオン源温度: | 250℃ |

6. 妥当性評価試験

検体濃度が 0.01ppm 及び 0.1ppm になるよう標準液を添加した。サロゲート物質は 25ppb となるよう添加し、分析者 2 名が 1 日 2 併行 3 日間で試験を実施した。得られた結果から選択性、定量限界、真度、精度を求め、妥当性評価ガイドラインに従い評価した。

実験結果・考察

前処理I～IIIの方法で試験溶液を調製し、148 農薬の妥当性評価試験を実施した。すべての性能パラメーターが目標値を満たした農薬を「適合」と判定した。結果を表 3 に示す。

表 3 試料ごとの妥当性評価適合数

| | オレンジ | グレープフルーツ | レモン |
|---------|------|----------|-----|
| 前処理 I | 71 | 143 | 109 |
| 前処理 II | 81 | — | — |
| 前処理 III | 119 | 119 | 109 |

1. 妥当性評価試験の結果について

前処理Iのグレープフルーツが 143 農薬と最も多く適合した。これは、9 種のサロゲート物質を内部標準として各農薬へ割り当てる際にグレープフルーツの結果を用いたためと考えられる。一方、前処理 I のオレンジが 71 農薬と最も少なかった。0.01ppm の試料で真度が 120%を超えた農薬が多く見られたことから、精製工程を変更した前処理IIを試したが、前処理Iと同程度の結果であった。そのため、グレープフルーツ及びレモンでは前処理 II の試験は実施しなかった。前処理IIIでは抽出工程を変更したところ、3 食品全てが適合数 100 を超える結果となった。農薬ごとの結果を表 4 に、前処理IIIの試験フローを図 1 に示した。

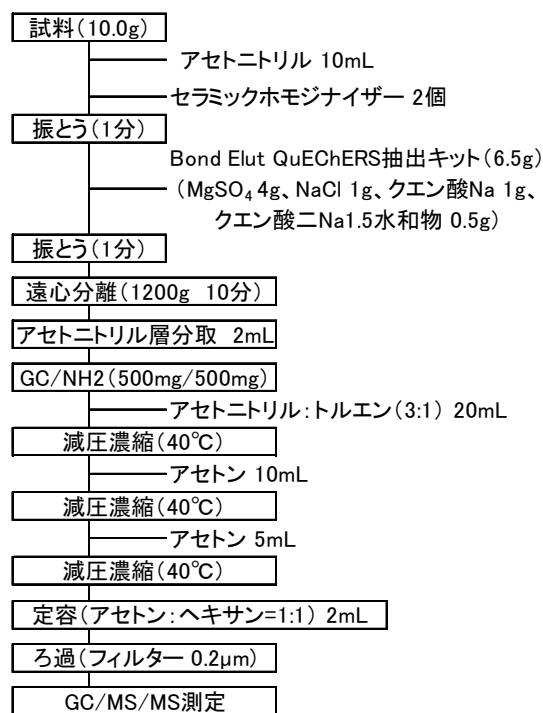


図 1 前処理III試験フロー

2. 精製効果について

前処理I～IIIの方法でブランク試験溶液を調製し、SCAN モード (50<m/z<650) で測定を行い、トータルイオンクロマトグラム (TIC) の比較により、精製効果を確認した。(図 2) オレンジは、9 分から 16 分に見られる試料由来ピークの強度がI>II>IIIの順に小さくなっ

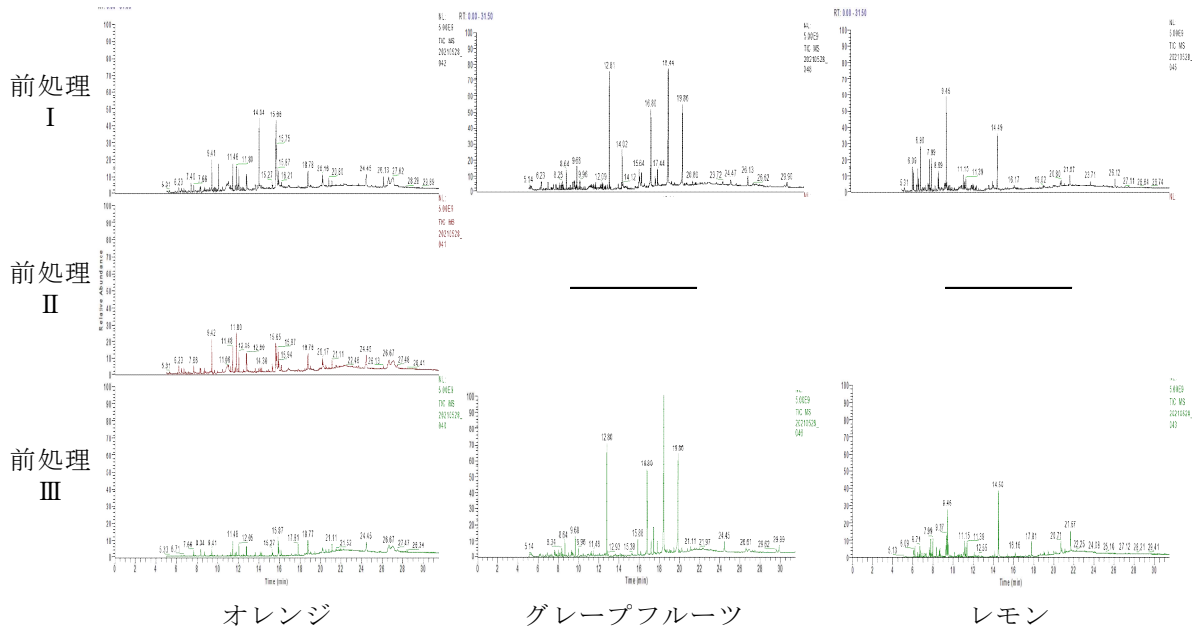


図2 試料ごとのTIC比較

ていたが、グレープフルーツとレモンでは大きな違いは見られなかった。

3. 通知試験法との比較（作業時間等）

現在当所で行っている通知試験法と前処理IIIについて、妥当性評価試験1回あたりを比較した。その結果、通知試験法と比べて作業時間は1/2、有機溶媒使用量は1/3、ガラス器具の使用個数は1/5に低減した。

4. 測定装置の違いによる比較

前処理IIIの方法で処理した抽出液を表2と異なるGC-MS/MSでも測定し、妥当性評価適合数を比較した。結果、どの試料も適合数が減少し、オレンジでは半分以下となった。3種とも0.01ppmの試料で真度が120%を超えてしまい不適合となる農薬が多く見られた。カラムや測定イオン、温度等の測定条件の変更が結果に影響したと推測された。

まとめ

迅速かつ簡便に多成分一斉分析をすることを目的に、QuEChERS法を取り入れた分析法を検討した。オレンジ、グレープフルーツ及びレ

モンを対象とした妥当性評価試験では、70～80%の農薬が適合となり、また、通知試験法と比べて作業時間、有機溶媒使用量、ガラス器具の使用個数を大幅に低減することができた。今後は、当所の行政検査に導入していく予定である。

文献

- 1 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知「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法について」平成17年1月24日 食安発第0124001号


表4 妥当性評価試験結果一覧


| 番号 | 農薬の品目 | 農産物(柑橘類) | | | 備考 |
|----|------------|----------|----------|-----|--------------|
| | | オレンジ | グレープフルーツ | レモン | |
| 1 | EPN | ○ | ○ | ○ | |
| 2 | アクリナリン | ○ | - | ○ | |
| 3 | アサコナゾール | ○ | ○ | ○ | |
| 4 | アジンホスメチル | ○ | - | - | |
| 5 | アゾキシストロピン | ○ | ○ | - | |
| 6 | アトラジン | - | ○ | ○ | |
| 7 | アニコホス | ○ | ○ | ○ | |
| 8 | アラクロール | ○ | ○ | ○ | |
| 9 | アレスリン | - | - | - | |
| 10 | イサゾホス | ○ | ○ | ○ | |
| 11 | イソカルホホス | - | - | - | |
| 12 | イソキサチオン | - | - | - | |
| 13 | イソフェンホス | - | - | - | |
| 14 | イソプロチオラン | ○ | ○ | ○ | |
| 15 | ウニコナゾールP | ○ | ○ | ○ | |
| 16 | エタルフルラリン | ○ | ○ | ○ | |
| 17 | エチオン | ○ | - | ○ | |
| 18 | エティフェンホス | - | ○ | ○ | |
| 19 | エトプロホス | ○ | ○ | ○ | |
| 20 | エトリジアゾール | - | ○ | ○ | |
| 21 | エトリムホス | ○ | ○ | ○ | |
| 22 | エンドスルファン | ○ | ○ | - | 定量限界 0.02ppm |
| 23 | オキサジメチル | ○ | ○ | ○ | |
| 24 | オキシフルオルフェン | ○ | ○ | ○ | |
| 25 | オメエート | - | ○ | ○ | |
| 26 | カスサホス | - | ○ | ○ | |
| 27 | カフェンストロール | ○ | - | ○ | |
| 28 | カルホフェノチオン | ○ | ○ | ○ | |
| 29 | キナルホス | ○ | ○ | ○ | |
| 30 | キノキシフェン | - | - | - | |
| 31 | キノクラミン | ○ | ○ | ○ | |
| 32 | キントゼン | - | - | - | |
| 33 | クレソキシムメチル | ○ | ○ | ○ | |
| 34 | クロメプロップ | - | ○ | ○ | |
| 35 | クロルタルシメチル | ○ | ○ | - | |
| 36 | クロルピリホス | ○ | ○ | ○ | |
| 37 | クロルピリホスメチル | ○ | ○ | ○ | |
| 38 | クロルフェナピル | - | - | - | |
| 39 | クロルフェンゾン | ○ | ○ | ○ | |
| 40 | クロルフェンピホス | ○ | ○ | ○ | 定量限界 0.02ppm |
| 41 | クロルプロファミ | ○ | ○ | ○ | |
| 42 | サリチオン | ○ | ○ | ○ | |
| 43 | シアナジン | ○ | ○ | - | |
| 44 | シアノフェンホス | ○ | - | - | |
| 45 | シアノホス | ○ | - | - | |
| 46 | ジクロトホス | ○ | ○ | - | |
| 47 | ジクロフェンチオン | ○ | ○ | ○ | |
| 48 | ジクロプロトラゾール | ○ | ○ | ○ | |
| 49 | ジクロベニル | - | ○ | ○ | |
| 50 | ジクロラン | ○ | ○ | ○ | |

| | | | | | |
|-----|-------------|---|---|---|--------------|
| 51 | ジクロルホス | - | - | - | |
| 52 | ジスルホトン | ○ | ○ | ○ | |
| 53 | ジチオピル | ○ | ○ | - | |
| 54 | シハロリン | ○ | ○ | ○ | |
| 55 | シハロホップチル | ○ | ○ | ○ | |
| 56 | ジフェノコナゾール | ○ | ○ | ○ | |
| 57 | シフルトリン | ○ | ○ | ○ | |
| 58 | シフルフェナミド | ○ | ○ | ○ | |
| 59 | ジフルフェニカン | ○ | ○ | ○ | |
| 60 | シベルメリン | ○ | - | ○ | |
| 61 | シメコナゾール | ○ | ○ | ○ | |
| 62 | ジメチピン | - | ○ | ○ | |
| 63 | ジメチルピンホス | ○ | ○ | ○ | 定量限界 0.02ppm |
| 64 | ジメトエート | ○ | ○ | ○ | |
| 65 | スルフロホス | ○ | ○ | ○ | |
| 66 | ダイアジノン | ○ | ○ | ○ | |
| 67 | チオベンカルブ | ○ | ○ | ○ | |
| 68 | チオメソ | ○ | ○ | ○ | |
| 69 | チフルサミド | ○ | ○ | - | |
| 70 | テクナゼン | - | ○ | ○ | |
| 71 | テトラクロルピンホス | ○ | ○ | ○ | |
| 72 | テトラジホン | ○ | ○ | ○ | |
| 73 | テフルトリン | ○ | ○ | ○ | |
| 74 | デメソ-Sメチル | ○ | ○ | ○ | |
| 75 | デルタメリン | - | - | - | |
| 76 | テルブホス | ○ | ○ | - | |
| 77 | トリアジメノール | ○ | ○ | - | |
| 78 | トリアジメホン | ○ | ○ | - | |
| 79 | トリアゾホス | ○ | ○ | ○ | |
| 80 | トリアレート | ○ | ○ | ○ | |
| 81 | トリブホス | - | - | - | |
| 82 | トリフルラリン | ○ | ○ | ○ | |
| 83 | トリフロキシストロビン | ○ | ○ | ○ | |
| 84 | トルクロホスメチル | ○ | ○ | ○ | |
| 85 | ナレート | - | - | - | |
| 86 | ニロタールイソプロピル | ○ | ○ | ○ | |
| 87 | パラチオン | - | - | - | |
| 88 | パラチオンメチル | ○ | ○ | ○ | |
| 89 | ハルフェンプロックス | ○ | ○ | ○ | |
| 90 | ピフェノックス | ○ | ○ | ○ | |
| 91 | ピフェントリン | ○ | ○ | ○ | |
| 92 | ピペロホス | ○ | ○ | ○ | |
| 93 | ピラクロホス | ○ | ○ | ○ | |
| 94 | ピラゾホス | ○ | ○ | ○ | |
| 95 | ピリダフェンチオン | ○ | ○ | ○ | |
| 96 | ピリダベン | ○ | ○ | - | |
| 97 | ピリフェノックス | ○ | ○ | ○ | |
| 98 | ピリプチカルブ | ○ | ○ | ○ | |
| 99 | ピリミジフェン | - | - | - | |
| 100 | ピリミノバックメチル | ○ | ○ | ○ | 定量限界 0.02ppm |

| | | | | |
|-----|-------------|---|---|---|
| 101 | ヒリミホスメチル | ○ | ○ | ○ |
| 102 | ピンクロゾリン | ○ | ○ | ○ |
| 103 | フィプロニル | ○ | ○ | - |
| 104 | フェナミホス | ○ | ○ | - |
| 105 | フェナリモル | ○ | - | ○ |
| 106 | フェントロチオン | ○ | ○ | - |
| 107 | フェンクロルホス | ○ | ○ | ○ |
| 108 | フェンスルホチオン | ○ | ○ | ○ |
| 109 | フェンチオン | ○ | ○ | - |
| 110 | フェントエート | ○ | ○ | ○ |
| 111 | フェンハレレート | ○ | ○ | ○ |
| 112 | フェンプロハトリン | ○ | ○ | ○ |
| 113 | フサライト | ○ | ○ | ○ |
| 114 | ブタミホス | ○ | ○ | ○ |
| 115 | ブピリメート | ○ | ○ | ○ |
| 116 | ブプロフェジン | - | - | - |
| 117 | フルアクリピリム | ○ | ○ | ○ |
| 118 | フルキンコナゾール | ○ | ○ | ○ |
| 119 | フルシトリネート | ○ | ○ | ○ |
| 120 | フルトラニル | ○ | ○ | ○ |
| 121 | フルバリネート | - | - | ○ |
| 122 | プロシトドン | ○ | - | - |
| 123 | プロチオホス | ○ | ○ | ○ |
| 124 | プロハホス | ○ | ○ | ○ |
| 125 | プロピザミド | ○ | ○ | ○ |
| 126 | プロフェノホス | ○ | ○ | ○ |
| 127 | プロモブチ | ○ | ○ | ○ |
| 128 | プロモプロピレート | ○ | ○ | ○ |
| 129 | プロモホス | ○ | ○ | ○ |
| 130 | ペルメトリン | ○ | ○ | ○ |
| 131 | ペンコナゾール | ○ | - | - |
| 132 | ペンディメタリン | ○ | ○ | - |
| 133 | ベンフルラリン | ○ | ○ | ○ |
| 134 | ホサロン | ○ | ○ | ○ |
| 135 | ホスチアゼート | ○ | ○ | - |
| 136 | ホスファミドン | ○ | ○ | ○ |
| 137 | ホスメット | - | - | - |
| 138 | ホノホス | ○ | ○ | ○ |
| 139 | ホルモチオン | - | - | ○ |
| 140 | ホレート | ○ | ○ | ○ |
| 141 | マラチオン(マラソン) | ○ | ○ | ○ |
| 142 | マイクロタニル | ○ | ○ | ○ |
| 143 | メカルバム | - | - | - |
| 144 | メタクリホス | - | ○ | ○ |
| 145 | メチダチオン | ○ | ○ | ○ |
| 146 | メピンホス | ○ | ○ | ○ |
| 147 | モノクロホス | ○ | ○ | ○ |
| 148 | モリネート | - | - | - |

119 119 109

 前処理Ⅰ：不適合 ⇒ 前処理Ⅲ：適合になった項目

 前処理Ⅰ：適合 ⇒ 前処理Ⅲ：不適合になった項目