

残留農薬分析の新しいシステムとその方法

住化テクノサービス(株) 環境科学センター
 瀧本 善之 長澤 悟

はじめに

食の安全や信頼性確保のために、厚生労働省から2003年5月30日に「食品衛生法等の一部を改正する法律」が公布された。この法律改正により、食の安全面では、残留農薬基準の設定された農薬が基準値を上回る食品に対し流通を禁止したネガティブリスト制度から、残留農薬基準値の設定されていない農薬に一律基準が設定され、残留農薬基準及び一律基準を上回る食品の流通を禁止するポジティブリスト制度に2006年5月29日から移行した。一方、食の信頼性の面では、農林水産省を中心にトレーサビリティの普及に向けた活動が進められており、食品の生産、加工、流通等が記録され、追跡できるようになってきた。

このように食品に対しては、トレーサビリティから散布された農薬の情報が得られ、更にその農薬の作物毎に設定された基準値と、実残留量とを比較すれば、流通の可否が判定できることになる。この状況は、今までのように散布された農薬の情報がなく、日本で登録された農薬原体の229種を、又ポジティブリスト制度導入で海外食品をも対象とした約400種類の農薬を、一斉に分析する多成分同時分析法を、必ずしも適用する必要がないことを意味する。

住化テクノサービス(株)では、GLP生態毒性試験や作物残留分析で要求される微量分析測定技術と共に原体・標品の純度分析技術を基に、上記状況変化に対応し、残留農薬分析の新しいシステムとその方法を開発したので、概要を紹介する。

農薬の残留分析の概要

農薬の残留分析では、通常、ppm (mg/kg) を下回る農薬を対象とするため、取り扱う農薬の絶対量がマイクログラム以下と微量であること、逆に大量に存在する夾雑物との分離・精製操作が必要である

こと及び操作の妥当性を検証することを特徴としており、残留量を測定するためには、1.抽出、2.精製、3.定性・定量分析、4.回収試験の操作を実施する。以下には非極性農薬の例を述べる。

抽出に当たっては、農薬が溶解し易く、作物組織に浸透する溶媒を選ぶが、水分含量の高い作物(野菜や果実等)には、水と親和する溶媒、例えば、アセトン、アセトニトリルやメタノールを用いる。水分含量の低い穀類等では、水で膨潤化した後、上記の溶媒を使用することが多い。

農薬を抽出した液から、水溶性夾雑物と水を分離するために、非極性溶媒で分液し、溶媒を濃縮する。

濃縮残渣には、脂質や色素等の極性の低い夾雑物が残存しており、定量の妨害となるため、シリカゲル、グラファイトカーボンやイオン交換樹脂を詰めた固相カラムで精製する。

分析にあたっては、定性分析するためのクロマトグラフィによる夾雑物との分離と、定量分析するための微量検出器とを統合したガスクロマトグラフ(GC)や高速液体クロマトグラフ(HPLC)が測定に用いられる。GCの検出器として、炎光度型検出器(FPD;リンやイオウを検出)やアルカリ熱イオン検出器(FTD;リンや窒素を検出)、電子捕獲型検出器(ECD;電子吸引基を検出)、質量分析計型検出器(MS;分子イオンやフラグメントイオンを検出)、又HPLCでは、紫外分光光度計検出器(UV;紫外吸収物質を検出)、蛍光光度計検出器(FL;蛍光物質を検出)、MS(-MS)が、対象農薬の構造と性質にあわせて選択される。

分析法の妥当性を判断するために、既知量の対象農薬を抽出前に添加し、操作を経て検出された量を測定し、添加量との比率(回収率)を算出する。この回収試験では、操作中の対象物質の損失、分析上の妨害や抽出物によるその他の影響(Matrix effect)

例えば、GC注入時の酸化阻害や検出器でのイオン化の増減等、を調べることになる。それらを解決し、回収率が70 - 120%の範囲であれば、分析法として許容され、添加量の下限量が、定量限界となる。通常、0.01ppm以下の定量限界が要求される。一斉同時分析法の場合、回収率は50 - 200%で、定量限界は0.01ppmである。これらの厚生労働省から公表（「厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知、食安発第1129002号」（平成17年11月29日））されている個別分析法と一斉の分析法の概要例をFig. 1aとFig. 1bに示す。

Homogenized sample (20g)
 | Blending 2 times with acetone (100mL and 50mL) and filtration
 Filtrate
 | Concentrating to remove acetone
 Aqueous solution
 | Shaking 2 times with ethyl acetate/hexane (1/4) with NaCl-
 saturated solution
 Organic solvent layer
 | Concentrating
 Concentrate
 | Cleaning with silica gel column and concentrating
 Concentrate
 Determination with GC-FPD

a. Schematic single (MEP) method

Homogenized sample (20g)
 | Blending 2 times with acetonitrile (50mL and 20mL) and
 centrifuging
 Supernatant
 | Partitioning between acetonitrile and water in the presence of
 NaCl
 Acetonitrile layer
 | Concentrating
 Concentrate
 | Cleaning with ENVI-Carb/LC-NH2 column and concentrating
 Concentrate
 Determination with GC-MS

b. Schematic multiresidue method

Fig. 1 Official residue analytical procedures

残留農薬分析の新しいシステムとその方法

トレーサビリティによる散布農薬とその作物での農薬の基準値と実際の残留量とを比較すれば、商品の流通の可否が判定できるため、住化テクノサービス(株)

では、操作の簡略化と回収試験の不要さを併せ持つ新たな分析システムとして以下の分析法を考案した。

分析用試料の必要量を遠心管に秤量後、²H(d体)又は¹³Cで標識した対象農薬を、基準値となるように添加し、アセトンで抽出し、その上に少量のヘキサンを加え農薬を転溶・濃縮し、ヘキサン層をGC-MSに注入する (Fig. 2参照)。

Homogenized sample (10g)
 | Shaking with acetone (20mL)
 Addition of hexane (10mL) and NaCl, and shaking
 Centrifuging
 Supernatant
 Determination with GC-MS

Fig. 2 Schematic residue analytical procedures by the proposed system

非標識体と標識体からなる標準溶液をMSに注入し、特徴的な非標識体の質量 (m/z) と標識体のそれ (m/z + dの数) を選択後、基準値相当の標識体に対する非標識体の面積比を基に、抽出液から得られるそれらの面積比とを比較して、基準値以上か未満かを判定する。

Fig. 3には、MEP (フェニトロチオン) のキュウリでの基準値0.2ppm相当の標識体MEP-d6を添加した場合の例を示した。MEPの特徴のあるm/z = 277とd6標識体のm/z = 283 (277 + 6) を選択し、標準液 (Fig. 3a) と抽出液 (Fig. 3b) のクロマトグラムから、キュウリの残留量は基準値未満であると簡単に判定できる。なお、農薬の特定のために、二つ以上のイオンを選択するが、このキュウリの例では、親イオンのみを図に示した。

この新しいシステムでは、分析操作を通して、標識体为非標識体と同じ挙動をするために、回収試験が不要であり (即ち回収率、真度/Truenessは、定量誤差による若干のバラツキがあるものの、常に100%と考えられるため) しかも短時間で結果が得られることに特徴がある。又、MSの選択イオンの切り替えにより、精製操作が省略できることに加え、多数の剤の同時分析が可能であり、残留基準値の1/10未満を目的とする場合には、それに相当する量を添加することにより、上記と同様に容易に分析できる。

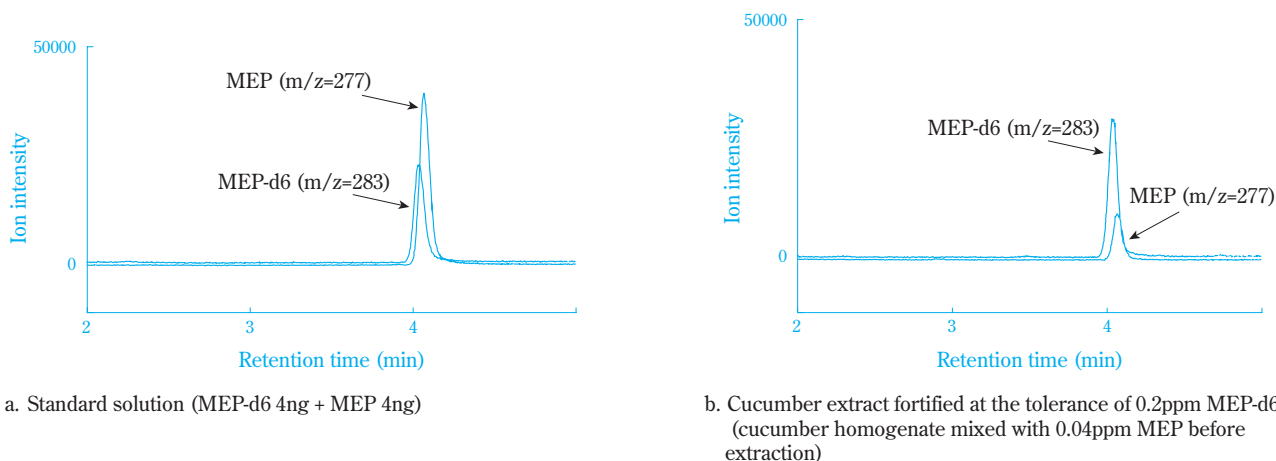


Fig. 3 GC-MS (SIM) chromatograms

Table 1 Critical Comparison of the proposed method with the official ones

Item	Proposed method	Official methods	
		Single residue	Multi residue
Residue	Single and multi residue	Single residue	Multi residue
Target pesticide	To be known	To be known	Not to be known
Extraction, Partition and concentration procedures	Addition of a labeled standard (an internal standard) before extraction. Simple and short system. In one vessel	Step by step system	
Determination	GC-MS (HPLC-MS)	GC-FTD, -ECD, HPLC-UV	GC-MS (HPLC-MS)
Specificity	High, > 2+2 (labeled standard) selected ions	Low, due to detector selectivity	High, > 2 selected ions
Sensitivity	High	High	High
Trueness	Very high due to presence of an internal standard	Depending on recovery rate	
Matrix effect	Neglected by an internal standard	Yes, evidenced by the recovery test	
Standard	Analytical standard Labeled with deuterium or ¹³ C	Non-labeled analytical standard	
Validity study	Unnecessary	Recovery test	
Total analytical time	Hours	Days	Weeks

公定法と新しいシステムとの比較

個別の農薬の公定分析法や一斉同時分析法と新しいシステムの分析上の比較をTable 1に纏めた。

新しいシステムでの特徴は、対象農薬の標識体があれば、数十分程度の短時間で、精度良く分析が終了できることにある。

おわりに

本技術内容については、特願2004-264936で特許査定が終了したため、住化テクノサービス(株)では本システムを、短い期間で収穫から市場へ出回る作物に対しても、短時間で合否判定できる有効な分析方法として活用し、残留農薬の消費者への安全と安心を向上させたいと考えている。