

食品中残留農薬等一日摂取量調査

西川 徹、濱野 敏一

厚生労働省の委託事業である「食品残留農薬等一日摂取量実態調査事業」に参画し、平成20年度に県内に流通した食品を対象にして、マーケットバスケット調査方式による農薬の一日摂取量調査を実施した。調査対象食品は大村市内の食料品店で購入した167種類であり、これを14群に分類した。調査対象農薬は「食品中に残留する農薬、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日付け食安発第0124001号)で示す試験法において「③LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅱ(農産物)」が適用可能な41農薬とした。各食品群へ0.1 µg/mL になるように添加し、41農薬の回収率を検討した結果、概ね60~130%であった。また、検出下限値はジクロロメジン、ジベレリン、1-ナフタレン酢酸及びプロポキシカルバゾンNa塩を除いて0.01 µg/mL以下であった。これらの食品群を高速液体クロマトグラフータンデム質量分析装置(LC/MS/MS)を用いて分析したところ、いずれの食品群からも農薬は検出されなかった。

キーワード: 一日摂取量、残留農薬、高速液体クロマトグラフータンデム質量分析

はじめに

食の安全を確保するため、日常の食事を介してどの程度の農薬を摂取しているかを把握することは重要である。厚生労働省では国民が日常の食事を介して食品に残留する農薬等をどの程度摂取しているかを把握するため、国民栄養調査をもとにマーケットバスケット調査方式による一日摂取量の調査を行っている。本県は平成20年度から本調査に参加し、通常の行政依頼検査では行っていない「LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅱ(農産物)」¹⁾(以下、「通知法」)が適用可能な41農薬について分析法を検討し、調査を行ったので報告する。

調査方法

1 試料及び試薬

(1) 試料

食品は「平成18年度国民健康・栄養調査(北九州ブロック)」を参考に大村市内の小売店で長崎産のものを中心に167種類の食品を購入した。食品は表1に示すように食品分類Ⅰ~ⅩⅢに分類し、調理を要するものは調理した後、食品毎に均一に混合し、それを分析試料とした。また、市販されているミネラルウォーターをⅩⅣ群とした。

(2) 検査対象農薬

表2に示す41品目の農薬を対象とした。

(3) 試薬

農薬標準品は林純薬工業(株)の農薬混合標準溶液 PL2005-08、PL2005-09、PL2005-10を用いた。

蒸留水、メタノールは関東化学(株)製のLC/MS用を用い、アセトニトリル、アセトン及びヘキサンは残留農薬分

析用(5000倍濃縮品)を使用した。

塩化ナトリウム及び無水硫酸ナトリウムは残留農薬分析用を、その他の試薬は特級品を用いた。精製カラムはBond Elut C18 (1 g、6 mL、Varian社製)及びInertSep SI (500 mg、6 mL、ジーエルサイエンス(株)製)を用いた。Bond Elut C18はあらかじめアセトニトリル 10 mLで、InertSep SIはあらかじめメタノール 5 mL、アセトン 5 mL およびn-ヘキサン 10 mLでそれぞれコンディショニングして使用した。

表1 一日摂取量と購入食品

食品群	一日摂取量(g)	主な購入食品
I	348.7	白米、もち、赤飯
II	154.5	パン、麺類、じゃがいも
III	32.8	菓子類、プリン、砂糖、ケーキ
IV	9.8	オリーブ油、ごま油、バター
V	57.4	豆腐、納豆、豆乳、油揚げ
VI	87.6	リンゴ、バナナ、みかん、
VII	102.6	トマト、ほうれん草、かぼちゃ
VIII	202	キャベツ、大根、たまねぎ
IX	685.1	ビール、茶、コーヒー、コーラ
X	107.9	あじ、ひらめ、カキ、たこ、いか
X I	128.6	牛肉、豚肉、鶏肉、鶏卵
X II	109.9	牛乳、ヨーグルト、チーズ
X III	85.3	醤油、味噌、みりん、マヨネーズ
X IV	-	ミネラルウォーター

表2 保持時間と分析対象農薬の測定条件

Compound	RT (min)	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	DP ^{※1} (V)	CE ^{※2} (V)	LOD ^{※3} (pg)
フルメツラム	5.02	326.1	129	76	33	2.5
メトスルフロンメチル	5.60	382.1	167.1	26	21	2.5
チフェンスルフロンメチル	5.63	388.1	167.2	71	21	2.5
アジムスルフロン	6.04	425.1	182.1	21	23	0.5
シノスルフロン	6.40	414	183	21	23	2
クロルスルフロン	6.44	358	141.1	61	25	4
イマザキン	6.45	312	199	61	39	1.5
フロラスラム	6.46	360.1	129	76	29	5
ホラムスルフロン	6.83	453.2	182.1	71	27	1.3
トリバヌロンメチル	7.62	396.1	155.1	61	19	2.5
メソスルフロンメチル	8.17	504.1	182.1	86	31	0.5
エタメツルフロンメチル	8.42	411.1	196.1	16	23	0.85
ピラゾスルフロンエチル	9.17	415.1	182.1	21	25	2.5
ナブタラム	9.34	292.1	144	71	15	2.5
トリフロキシスルフロン	9.39	438.1	182	81	27	1.3
イオドスルフロンメチル	9.49	508	167.2	76	25	0.75
ハロスルフロンメチル	9.56	435.1	182.1	21	27	2
メスラム	10.01	418.1	175.1	91	35	0.25
ペノキスラム	10.32	484.1	195.1	96	39	0.6
クロリムロンエチル	10.75	415	186.1	16	25	0.85
エトキシスルフロン	11.20	399.1	261.1	86	21	2
チジアズロン	11.31	221.1	102.2	64	23	2.5
プロスルフロン	11.78	420	141	81	27	4
ベンスルフロンメチル	12.60	411.1	149.3	66	29	1.5
クロジナホップ酸	12.70	312	266.2	66	23	5
フルアジホップ	12.70	328.1	282.1	76	23	12.5
プリミスルフロンメチル	12.97	469	254	76	25	2
ホルクロルフェニユロン	14.00	248.1	129	26	25	1
フェンヘキサミド	16.60	302	97.1	91	35	5
ジクロメジン	17.17	255	92.2	26	35	50
ジベレリン	5.46	345	143	-81	-44	100
4-クロロフェノキシ酢酸	7.24	185	126.9	-16	-16	12.5
プロポキシカルバジンNa塩	7.56	397	113	-21	-46	20
1-ナフタレン酢酸	8.48	184.9	141	-26	-18	50
クロプロップ	8.71	199	126.9	-26	-18	5
アイオキシニル	9.80	369.7	126.7	-31	-50	0.5
MCPA	10.22	199	141	-26	-18	7.5
ジクロルプロップ	12.10	232.9	161	-26	-18	7.5
MCPB	13.96	227.1	141.2	-16	-16	7.5
ホメサフェン	14.71	437	195	-66	-48	10
アシフルオルフェン	14.77	360	315.6	-21	-14	10

※1: Declustering Potential

※2: Collision Energy

※3: Limit of Detection (Standard Solution in Methanol)

2 分析装置及び条件

(1) 高速液体クロマトグラフ (HPLC)

高速液体クロマトグラフには(株)島津製作所製 LC-VP システムを使用し、分析カラムは関東化学(株)製 Mightysil RP-18GP (2.0 mm i.d.×150 mm、粒子径 3 µm)を用いた。カラム温度は 40°C とし、移動相は A 液に 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液、B 液にメタノールを用い、B 液(%): 15 (0 min)→40 (1 min)→40 (3.5 min)→50 (6 min)→55 (8 min)→95 (17.5-30 min) でグラジエント分析を行い、次の分析までは 10 分間平衡化した。また、流速は 0.2 mL/min、試料注入量は 5 µL とした。

(2) 質量分析装置

Applied Biosystems 社製 API2000 を用いた。イオン化はエレクトロスプレー (ESI) によるポジティブ及びネガティブイオン化法により行った。ポジティブモードではイオンスプレー電圧は 5.0 kv、イオン源温度は 500°C に設定し、ネガティブモードではイオンスプレー電圧は -4.5 kv、イオン源温度は 500°C に設定した。

また標準溶液をメタノール: 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液の (1:1) 溶液で希釈し、0.1~1.0 ppm の濃度で各農薬のトランジションを検討した。

3. 分析方法

I、II、III、V 群においては通知法「①穀類・豆類及び種実類の場合」に準じて行った。X II 及び X III 群については、アセトニトリルによる抽出と同時に脱脂を目的としてアセトニトリル飽和 n-ヘキサン 20 mL を加えた。VI~IX 群においては通知法「②果実、野菜、ハーブ、茶及びホップの場合」に準じて行った。

IV、X、X I 群の抽出方法については、小西らの抽出法²⁾を参考にアセトン・ヘキサン系による抽出を行った。すなわち均一化した試料 10 g (IV 群は 5 g) に蒸留水 20 mL を加え、15 分放置した後、アセトン 50 mL 及び n-ヘキサン 20 mL を加えホモジナイズした。遠心分離後、下層を採取した。更に残さにアセトン 20 mL を加え再度ホモジナイズし、遠心分離後アセトン層を採取した。これを先ほどの下層とあわせてアセトンで 100 mL に定溶した。この抽出液 20 mL を試験溶液とし、40°C で濃縮しアセトンを除去した後、アセトニトリル 20 mL、0.01 mol/L 塩酸 20 mL 及び塩化ナトリウム 10 g を加え振とうした。以降の操作は「①穀類・豆類及び種実類の場合」とおりに行った。なお、検量線は 0.01~0.2 ppm の範囲で作成した。ミネラルウォーターについては試料 20g に 0.1 mol/L 塩酸 1 mL 及び塩化ナトリウム 10g を加え、振とうした。その後の分析は通知法「②果実、野菜、ハーブ、茶及びホップの場合」に従った。

4 添加回収実験

添加量は 1 µg (最終試験液: 0.1 µg/mL) とし、3 の分析方法を用いて VII、VIII、X I、X IV 群については n=3 で、それ以外の群については n=1 で回収実験を行った。なお、いずれも添加してから 30 分経過後分析を開始した。同時に各サンプルのブランク溶液に標準溶液を添加し、マトリックス効果についても検討を行い、試料中マトリックスの影響があったサンプルについては標準添加検量線により定量を行った。

結果と考察

1 分析条件の検討

(1) 液体クロマトグラフ条件の検討

通知法において分析カラムは粒子径 3~3.5 µm の ODS 系カラムが例として示されているため、これに当てはまるカラムを検討したところ、Mightysil RP-18GP (2.0 mm i.d.×150 mm、粒子径 3 µm、関東化学(株)製) がピーク形状及び分離も良好であったためカラムは Mightysil RP-18GP を選択した。一方で L-cloumn2 ODS は分離が悪く、本分析には適していなかった。

通知法では移動相は 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム含有メタノールとなっているが、移動相中の酢酸アンモニウム濃度と感度を検討したところ、移動相中の酢酸アンモニウム濃度が高い場合は感度の減少が確認された。一方で酢酸アンモニウム濃度が低い場合でも感度が減少することはなかったため、メタノールには酢酸アンモニウムは加えずに 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液とメタノールの 2 液を移動相とした。グラジエント条件は通知法に従った。本移動相でも分離やピーク形状は良好であった。1 回の分析時間は 30 分としたが、機器を安定させる為に A 液の割合を 85% にして 10 分間安定化させる必要があった。

(2) 質量分析計の条件の検討

化合物ごとの条件については表 2 に示した。イオン化は ESI によるポジティブイオン化とネガティブイオン化によって行い、イオンスプレー電圧やイオン源温度等のイオンソースのパラメーターは、感度が一番低いジクロメジン (ポジティブイオン化) とジベレリン (ネガティブイオン化) の感度が最大になるようフローインジェクションアナリシス (FIA) により最適な条件を決定した。また化合物ごとの最適条件については、インフュージョンポンプを用いた MRM 法により決定した。

今回の検討により、ポジティブモードで 30 成分、ネガティブモードで 11 成分の一斉分析が可能になり、その検出下限値 (LOD、S/N=3) はジベレリンを除いて 50 pg 以下と高感度であった。また、0.01 ppm における繰り返し測定においても再現性が確認され、キャリアオーバーなどの問題もなかった。

表3. 各食品群における回収率

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	X I	X II	X III	X IV
フルメツラム	101.5	78.1	81.7	78.4	68.0	89.3	74.3	83.6	112.0	71.9	78.3	84.8	101.5	91.9
メトスルフロメチル	80.4	84.4	83.4	51.8	76.9	110.0	75.0	75.5	108.0	68.1	44.0	112.8	103.0	100.2
チフェンスルフロメチル	72.5	90.6	60.6	49.0	49.6	53.7	81.2	79.9	92.2	34.7	50.4	76.2	72.7	75.7
アジムスルフロ	70.5	76.7	69.0	103.3	85.6	109.0	83.4	80.5	96.3	116.7	44.9	116.0	98.1	92.5
シノスルフロ	78.6	74.1	54.9	93.6	80.2	70.4	75.8	71.0	75.5	96.1	95.0	85.2	72.5	70.9
クロルスルフロ	74.3	77.1	83.0	75.2	89.7	114.0	89.6	89.2	92.8	89.9	50.6	61.7	64.7	72.2
イマザキン	54.4	67.4	71.8	58.8	77.8	68.2	87.7	78.0	82.1	89.4	83.0	74.8	84.5	65.0
フロララム	81.6	83.0	83.5	87.2	85.2	74.0	86.5	92.4	83.6	105.0	104.0	66.8	65.5	72.3
ホラムスルフロ	85.3	96.7	87.6	88.5	85.9	97.6	83.3	83.8	82.4	73.5	60.2	59.7	81.4	66.3
トリバヌロンメチル	75.1	87.8	94.7	96.5	90.8	83.5	94.7	95.5	89.0	94.7	90.5	63.1	78.7	72.4
メソスルフロメチル	88.2	74.2	76.9	88.5	71.0	87.0	100.5	97.0	80.1	70.5	69.1	94.4	80.9	100.5
エタメツルフロメチル	99.1	102.0	105.0	93.7	96.9	58.6	87.0	89.2	90.9	71.5	83.1	78.7	77.5	70.1
ピラゾスルフロエチル	74.8	76.4	78.1	71.4	117.3	88.0	81.8	78.3	88.4	74.6	74.7	76.9	86.5	73.1
ナブタラム	68.0	74.6	71.8	82.5	70.5	97.7	99.6	89.3	88.5	71.7	65.8	90.5	86.9	95.8
トリフロキシスルフロ	75.1	74.8	71.2	58.0	90.7	91.7	88.3	93.8	80.0	77.9	71.7	90.0	94.1	59.6
イオドスルフロメチル	89.0	78.3	78.0	73.3	112.0	103.0	97.7	88.2	103.0	76.4	65.9	110.0	73.6	91.3
ハロスルフロメチル	75.9	79.8	79.8	79.2	91.4	85.2	85.4	79.8	83.9	85.9	86.5	76.0	83.5	69.2
メスラム	86.7	62.7	40.1	57.4	74.3	87.1	107.6	87.4	76.1	71.3	65.7	77.8	76.2	77.6
ペノキスラム	76.6	76.5	81.4	62.8	90.6	46.2	74.1	78.8	82.8	69.0	75.8	61.6	52.0	61.4
クロリムロンエチル	91.3	96.5	75.2	85.9	71.2	94.6	82.6	76.5	82.8	76.8	60.0	70.6	84.0	67.7
エトキシスルフロ	82.9	84.9	76.5	83.0	87.9	92.5	94.6	96.9	77.1	100.2	61.3	72.5	50.3	68.8
チジアズロン	127.0	130.0	140.0	100.0	131.0	99.7	67.6	100.7	72.7	114.6	79.5	84.5	65.2	71.9
プロスルフロ	89.2	75.8	83.8	103.2	74.4	91.3	83.1	89.3	96.5	72.9	47.7	85.6	70.4	73.9
ベンスルフロメチル	92.4	77.6	81.8	76.0	98.9	75.0	88.3	85.6	113.0	79.9	59.6	96.7	84.4	87.3
クロジナホップ酸	87.2	87.2	89.5	91.3	82.5	80.7	89.4	87.0	85.8	95.0	81.4	61.5	121.0	71.0
フルアジホップ	83.9	84.3	89.3	81.0	88.3	119.4	81.2	86.3	90.6	110.0	99.6	61.8	81.6	71.4
プリミスルフロメチル	85.0	81.8	97.5	72.4	81.3	97.8	87.5	89.3	101.0	73.0	71.2	93.6	90.4	70.9
ホルクロルフエニユロン	95.9	103.0	104.0	85.5	103.0	82.0	90.1	97.1	93.4	53.0	68.8	70.1	67.1	68.9
フェンヘキサミド	79.7	90.9	94.0	89.8	88.2	81.4	94.6	95.4	96.2	98.0	84.2	93.4	94.1	75.6
ジクロメジン	77.9	86.5	54.5	114.0	96.6	55.9	85.1	86.5	80.9	107.0	48.5	86.8	77.8	69.3
ジベレリン	90.6	97.4	92.1	49.6	97.9	67.2	85.1	86.6	92.3	69.6	47.7	88.9	86.7	70.5
4-クロロフェノキシ酢酸	75.5	108.9	61.0	62.8	78.1	105.0	87.4	77.4	72.8	70.3	62.5	80.1	95.8	72.7
プロポキシカルバゾンNa塩	78.8	84.5	88.8	86.0	95.5	97.8	85.2	85.4	92.8	78.0	58.4	77.2	86.0	84.7
1-ナフタレン酢酸	86.0	90.4	89.7	86.7	94.7	110.0	90.5	94.7	96.3	94.0	88.9	87.6	72.0	79.1
クロプロップ	92.1	97.5	93.5	45.6	86.8	71.7	87.2	88.0	92.8	82.2	55.1	79.1	75.5	70.4
アイオキシニル	95.7	113.3	131.0	77.4	133.8	99.6	71.0	87.0	109.0	83.2	72.5	109.0	101.0	108.3
MCPA	77.2	84.3	82.2	85.3	83.7	108.0	91.6	71.2	80.8	90.5	66.8	75.3	83.5	63.5
ジクロルプロップ	82.9	81.4	93.1	70.7	96.4	68.6	71.1	76.2	70.1	77.1	61.9	84.8	71.9	68.2
MCPB	82.5	87.5	90.0	79.7	97.2	83.6	86.7	86.6	85.2	86.0	63.5	81.9	74.2	69.0
ホメサフェン	81.4	84.5	83.7	93.6	77.9	90.6	71.9	83.8	82.0	78.3	79.0	78.7	85.7	74.8
アシフルオルフェン	74.8	78.3	79.6	80.5	78.9	86.9	76.5	96.8	80.7	76.4	78.2	78.6	79.8	68.4

2 回収試験

回収試験の結果について表3に示す。ほとんどの農薬で概ね60%~130%の範囲にあり、良好であったが、加工食品群では農産物と比較してマトリックス成分の影響が大きくなる傾向がみられた。また、標準添加試料のクロマトグラムから定量下限値を算出したところ、ジクロメジン、ジベレリン、1-ナフタレン酢酸及びプロポキシカルバゾンナトリウム塩を除くと0.01 ppm以下であった。MCPB(X I群)、アイオキシニル(IV、V、X群)、アシフルオルフェン(X I群)、チジアズロン(VI群)、ナプタラム(X I群)、フルメツラム(X I群)、プロスルフロン(IV、X I群)などの農薬については回収率が50%を下回ったが、これらの農薬は検出感度が高いためスクリーニングとしては適用可能と考えられる。一方で食品群毎にみると、IV群及びX I群で回収率が50%を下回っているパターンがみられた。これは農薬の一部が抽出時にn-ヘキサン層に移行していることが考えられる。

また、クロマトグラム上に一部のサンプルからピークが確認されたが、定量を阻害するような妨害ピークはみられなかった。

3 一日摂取量調査

167種類の食品とミネラルウォーターを検体とし、41種類の農薬の一日摂取量を行ったところ、検出された農薬はなかった。よって今回の長崎県が担当した調査結果については安全性の面で特に問題はないと考えられた。

ま と め

厚生労働省通知法に準じた方法により、LC/MS/MSにおいて41農薬の分析法を検討したところ、一部の農薬を除いてポジティブモードとネガティブモードの両方において0.01ppmよりも高感度で検出することが可能であり、回収率も良好であった。

本分析法により県内に流通する食品167種類について検査を行ったところ、農薬は検出されなかった。一日摂取量調査は食品全般を対象に実際に摂取されている農薬等の一日摂取量を求める方法であり、残留農薬基準値の設定や見直しを行う上で重要な資料となる。また一方で、今回の調査に参加することにより、当センターにおけるLC/MS/MSによる検査対象農薬の数を増やすことができた。

今後も計画的に本調査に参加し、検査対象農薬を追加すると同時に県内の農薬の一日摂取量を把握することで行政における残留農薬検査や危機管理対策に役立てていきたい。

参 考 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(一部改正)”平成17年11月29日、食安発第1129002号
- 2) 小西友彦、畑野和広:福岡市におけるマーケットバスケット調査方式による食品中の残留農薬の一日摂取量調査(2007)、福岡市保健環境研究所報、33、95-101、(2007)

Studies on Daily Dietary Intake of Pesticides

Toru NISHIKAWA and Toshikazu HAMANO

We worked in a research project, daily dietary intake of pesticide, conducted by Ministry of Health, Labour and Welfare in 2008. The test substances were 167 different kinds of foods and water we purchased in Omura city, and foods were sorted 14 groups. 41 different kinds of pesticides which is applicable “Multiresidue Method II for Agricultural Chemicals by LC/MS (Agricultural products)” were analyzed by each group. The recovery rate of pesticides after added to be 0.1 µg/mL were almost 60 ~ 130%. The quantitative limits were equal to or lower than 0.01 µg/ml except diclomezine, Gibberellic acid, 1- Naphthylacetic acid and propoxycarbazone Na. As the result of LC/MS/MS analysis, pesticides were not detected in any groups.

Key words: Daily Dietary Intake, Pesticide Residues, Liquid chromatography/tandem mass (LC/MS/MS)