

# 加工食品中の有機リン系農薬簡易一斉分析法の検討

生活衛生部門

Studies on Simultaneous Determination of Organic Phosphorous Pesticides  
in Processed Food

Division of Food and Environmental Hygiene

## Abstract

A method for the simultaneous determination of organophosphorous pesticide in processed food was studied, by the procedure based on QuEChERS method. The procedure involved the extraction of 10g sample with 10ml acetonitrile, followed by a salting-out step with anhydrous MgSO<sub>4</sub> and NaCl. Removal of sediment and water were performed by centrifugation. Hexane/Acetonitrile partitioning was performed for fat containing samples. The acetonitrile layer after salting out step was loaded into the GCB/PSA SPE cartridge, followed by elution with acetonitrile toluene (3:1). The elution was evaporated and the residue was dissolved in acetonitrile. GC/MS was used for quantitative analysis of pesticides. LC/MS was also used for the analysis of acephate and methamidophos. Fifty six organophosphorous pesticide were spiked at 0.1µg/g into 5 processed foods for the recovery study. Fifty two pesticides showed good recoveries (70-120%, RSD ≤ 20%, n=5). The detection limits of tested pesticides were 0.002 - 0.04µg/g.

**Key Words** : 残留農薬 pesticide residue, 加工食品 processed food,  
有機リン系農薬 organophosphorous pesticide, QuEChERS 法 QuEChERS method,  
ガスクロマトグラフ / 質量分析法 GC/MS, 液体クロマトグラフ/質量分析法 LC/MS

## 1 はじめに

平成18年度に食品中に残留する農薬等のポジティブリスト制度が施行され、加工食品についても規制の対象となった。

植物油等の一部の暫定基準が設定されている加工食品については、その基準が適用され、その他の加工食品については、原則として一律基準0.01ppmが適用される。ただし、原材料の残留値が基準に適合していれば、食品規格に適合するものとして取扱うとしている。しかし、加工食品の製品、原材料は多種多様であり、原料や加工の程度によってその成分や物理化学的性質が大きく異なり、製品によっては分析を妨害する脂肪等の夾雑成分が多くなり、分析が困難な場合がある。また、農薬が検出されても、どの原料に残留していたか特定できない場合がある。そのため、国や地方自治体での残留農薬検査の対象は、原材料となる青果物、魚介類等の生鮮食品が中心であり、加工食品についてはあまり検査されてこなかった。

平成20年1月に中国産冷凍餃子メタミドホス混入事件が発生しその後も、中国産冷凍食品中からの有機リン系農薬の検出事例が各地で相次いだ。冷凍食品をはじめ

とする加工食品の安全性が大きな社会問題となり、各行政機関で加工食品中の残留農薬検査を実施する動きが広まった。

京都市でも中国産冷凍餃子メタミドホス混入事件発生直後に、市内に流通する中国産冷凍食品の緊急収去検査を実施し、平成20年度より、冷凍加工食品中の残留農薬について収去検査を実施することとなった。

今回、冷凍加工食品の残留農薬検査の実施にあたって、有機リン系農薬57種を対象に、QuEChERS法を基にした迅速で簡易な分析方法を検討した。QuEChERS法<sup>1)</sup>は、2003年にAnastassiadesらにより発表された前処理方法であり、ポリプロピレン製遠心管中でアセトニトリル抽出、塩析、脱水を同時に行い、遠心分離して得られた試料抽出液に固相抽出に用いられている充填剤を直接混合して精製(バッチ精製)を行う迅速簡易な残留農薬分析法である。溶媒使用量が少なく、アセフェートやメタミドホス等の極性の高い農薬の回収が可能であるという利点がある。日本国内でも普及しつつあり、QuEChERS法を活用した残留農薬分析法が報告されている。<sup>(2)-(3)</sup>

今回、加工食品を検査対象とするにあたり、より精製効果を高め、濃縮率の高い試験液を得ることを目的とし

て精製の際に EnviCarb II/PSA カラムを使用する固相抽出法を用いる方法を検討したので報告する。

## 2 方法

### (1) 試料

京都市内に流通していた以下の冷凍加工食品を添加回収試験用に使用した。

冷凍餃子、冷凍いんげん、冷凍さばの塩焼き、冷凍鶏のからあげ、冷凍ポークソーセージ

### (2) 対象農薬及び標準物質

表 1 に LC/MS 測定対象農薬、表 2 に GC/MS 測定対象農薬及びモニタリングイオンを示した。有機リン系農薬 56 種類、異性体を含めて 59 物質を測定対象とした。極性の高いアセフェート、メタミドホスについては、LC/MS で測定しその他については GC/MS で測定した。農薬標準品は Dr. Ehrenstorfer GmbH 社、Riedel-deHaën 社、和光純薬工業、林純薬工業社製を用いた。各農薬標準品から 1000µg/mL 溶液を調製し、混合、希釈して添加回収試験用に 10µg/mL アセトニトリル混合標準溶液を調製した。

### (3) 試薬

アセトニトリル、ヘキサン、トルエンは残留農薬分析用を、塩化ナトリウム、無水硫酸マグネシウム、クエン酸三ナトリウム、クエン酸二ナトリウムは試薬特級のものを使用した。固相抽出カラムには、SUPELCO 社製の ENVI-Carb II/PSA (500mg/500mg) を用いた。

### (4) 装置

#### ア ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS)

GC は、ThermoQuest 社製 TRACE GC Ultra を、質量分析計は同社製 PolarisQ を使用した。測定条件は以下のとおりである。

GC カラム：関東化学製 ENV-5MS (30m, 0.25mm id, 膜厚 0.25 µm),

カラム温度：

50°C (1min)-20°C/min-150°C-10°C/min-300°C (7min)

注入口温度：50°C (0.1min)-14.5°C/sec-260°C (5min)

キャリアガス：He 1 ml/min

イオン源温度：230°C

イオン化法：EI

注入方法：PTVsplitless 注入法, splitlesstime3min  
splitless flow 50mL/min

注入量：1µL

測定：SCAN :m/z=50-500

#### イ 液体クロマトグラフ/質量分析計 (LC/MS)

LC 部

装置：Agilent 1100 Series (Agilent 社製)

カラム：Inertsil ODS-3 (2.1mm×150mm)

カラム温度：40°C

移動相：A 液 0.5%酢酸水溶液 B 液 アセトニトリル  
グラジエント：(B 液) 15% - (20min) - 95% (10min)

流速：0.2mL/min

注入量：5µL

MS 部

装置：LCQ DECA (ThermoQuest 社製)

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法  
Spray Voltage：5kV

Capillary Temp.：300°C

測定条件：表 1 に示す。

### (5) 試験溶液の調製

試験溶液の調製は図 1 のフローチャートに従って行った。

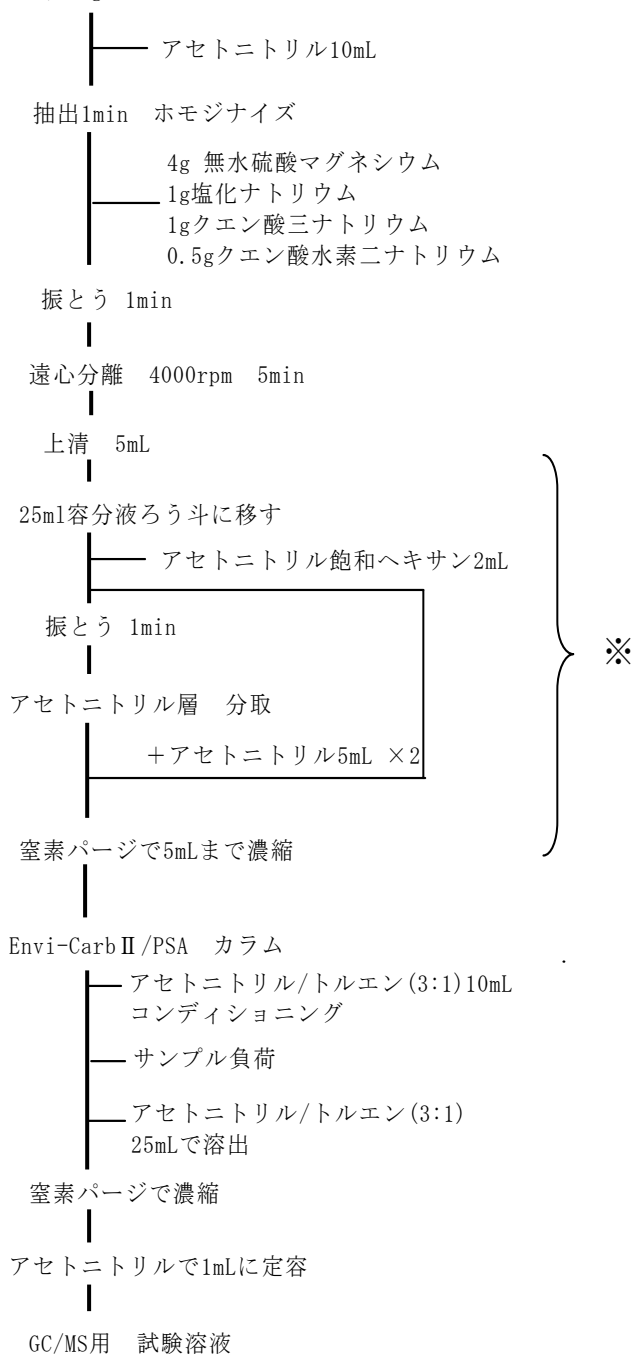
細切均一化した試料 10g をキャップ付きポリプロピレン製の 50ml 容遠心管にとり、アセトニトリル 10ml を加え、ultra turrax で 1 分間攪拌抽出した。これに無水硫酸マグネシウム 4g、塩化ナトリウム 1g、クエン酸三ナトリウム 1g、クエン酸水素二ナトリウム 0.5g を加え、1 分間激しく振とうした。その後、4000rpm、で 5 分間遠心した。

脂肪量の多い試料 (冷凍さばの塩焼き、冷凍ポークソーセージ) については、遠心後の上清 5mL を 25mL 容分液ろう斗に移し、アセトニトリル飽和ヘキサン 2mL を加え、振とう、静置後、アセトニトリル層を 25mL 容遠心管に分取した。分液ろう斗にアセトニトリル 5mL を加え、同様の操作を 2 回繰り返して計 3 回アセトニトリル/ヘキサン分配を行った。アセトニトリル層を窒素ページで 5mL 以下まで濃縮した。

ENVI-Carb II/PSA (500mg/500mg) カラムをアセトニトリル/トルエン (3:1) 混液 10mL でコンディショニングし、遠心後の上清のアセトニトリル層 5mL を負荷した。

脂肪量の多いサンプルについてはヘキサン/アセトニトリル分配後のアセトニトリル層を負荷した。アセトニトリル/トルエン (3:1) 混液 25mL で溶出した。溶出液を 40°C 窒素気流下で濃縮した後、アセトニトリル 1mL で定容し GC/MS 用試験溶液とした。また GC/MS 用試験溶液を 200µL とり、アセトニトリルを 300µL 加えて 2.5 倍に希釈し、LC/MS 用試験溶液とした。

試料10g 50mL容 遠心チューブ



※ヘキサン/アセトニトリル分配  
脂質の多いサンプルに適用した。  
脂質の少ないサンプルについては  
遠心後の上清5mLを直接Envi-Carb II/PSAカラム  
に負荷した。

図1 試験溶液の調製法

表1 LCMS/MS 測定農薬

compounds	RT (min)	monitering ions (m/z)	polar precursority	ion	energy%
acephate	2.46	143	+	184	15
methamidophos	2.49	112	+	142	25

表2 GC/MS(SCAN) 測定農薬

compounds	RT (min)	monitering ions (m/z)
azinphos_methyl	18.83	77,132,160
bromophos_ethyl	14.58	303,331,359
butamifos	14.96	200,232,286
cadusaphos	10.59	127,159,290
chlorfenvinphos(e)	14.03	267,323
chlorfenvinphos(z)	14.27	267,323
chlorpyrifos_methyl	12.67	286,288
chlorpyriphos	13.42	197,314
coumaphos	19.70	109,210,226,362
cyanofenphos(CYP)	16.81	141,157,169
cyanophos	11.83	79,109,243
diazinon	11.51	137,152,179
dichlofenthion	12.41	223,251,279
dichlorvos	6.70	79,109,185
dimethoate	11.49	87,93,125,229
dimethylvinphos(e)	13.34	109,295
dimethylvinphos(z)	13.65	109,295
disulfoton	11.87	60,88,186,274
edifemphos	16.91	109,173,310
EPN	17.88	157,169,185,323
ethion	16.03	231,384
ethoprophos	10.19	97,158,200
etrimfos	11.92	277,292
fenamifos	15.10	195,288,303
fenitrothion	13.34	109,125,277
fensulfothion	16.22	293,308
fenthion	13.68	125,278
formothion	12.66	93,125,170
fosthiazate	14.19	195,227
iprobefos	12.13	91,107
isofenphos	14.12	58,121,185,213
isoxathion	15.80	105,177,285,313
malathion	13.34	127,173,285
methidathion	14.95	125,145
monocrotophos	10.99	92,127,164
omethoate	10.16	110,141,156
parathion	13.71	235,291
parathionmethyl	12.96	263
phentoat	14.47	246,274
phorate	10.76	75,231
phosalone	18.45	182,367
phosmet	18.07	133,160
phosphamidone_(e)	11.73	127,193,264
phosphamidone_(z)	12.53	127,193,264
pirimiphos-methyl	13.04	276,305
profenofos	15.30	337,339
Propaphos(Kayaphos)	14.71	140,220,262,304
prothiofos	15.13	162,267,309
pyraclofos	19.18	125,139,194,360
pyridafenthion	17.67	199,360
quinalphos	14.48	146,157,298
salithion	10.90	153,201,216
sulprofos	16.45	156,322
terbufos	11.46	231
thiometon	11.12	88,125,246
tolclophos-methyl	12.86	125,265
vamidothion	15.14	87,109,145,169

表3 試料中のマトリックス成分の影響

Pesticide Name	Area Ratio(%) Matrix Standard/Solution Standard				
	餃子	いんげんまめ	鶏の唐あげ	ホークソーゼン*2	さばの塩焼き*2
acephate*1	56.35	83.84	48.42	77.78	15.45
azinphos_methyl	82.37	143.14	103.16	176.39	334.58
bromophos_ethyl	116.77	137.49	128.79	87.94	54.17
butamifos	97.04	129.69	98.50	100.14	120.09
cadusaphos	173.86	192.14	142.04	129.20	140.94
chlorfenvinphos (e)	118.46	134.20	124.57	78.94	88.03
chlorfenvinphos (z)	101.85	135.10	127.42	98.74	85.55
chlorpyrifos_methyl	145.76	151.72	115.69	81.80	125.44
chlorpyrifos	138.35	152.17	110.90	92.94	114.02
coumaphos	97.53	127.76	99.00	148.84	115.83
cyanofenphos (CYP)	102.85	122.14	104.41	106.16	116.44
cyanophos	143.50	167.41	113.34	111.07	133.61
diazinon	170.83	164.67	121.22	113.22	120.08
dichlofenthion	152.87	165.05	119.61	92.45	102.38
dichlorvos	173.42	153.88	130.63	208.53	137.08
dimethoate	114.25	185.51	97.29	75.82	67.39
dimethylvinphos (e)	110.20	165.07	112.61	91.52	138.83
dimethylvinphos (z)	114.42	135.29	54.40	54.57	129.71
disulfoton	179.74	173.57	133.57	112.54	105.63
edifemphos	111.77	134.53	96.19	115.09	165.52
EPN	93.91	97.97	95.59	112.62	145.64
ethion	106.45	120.82	98.54	105.64	111.25
ethoprophos	191.23	183.35	134.03	128.32	178.02
etrimfos	164.65	181.31	133.35	82.57	95.36
fenamiphos	118.76	146.66	112.76	115.65	130.11
fenitrothion	114.33	156.91	133.29	92.97	126.71
fensulfothion	113.75	136.01	111.29	116.60	108.80
fenthion	126.44	143.12	142.33	102.12	98.62
formothion	100.33	135.54	80.70	66.38	68.58
fosthiazate	109.30	151.84	153.15	117.22	125.41
iprobenfos	178.32	170.17	142.69	118.28	122.08
isofenphos	111.63	138.23	138.35	106.91	138.23
isoxathion	105.15	124.49	97.93	154.81	162.31
malathion	115.22	147.68	129.49	102.58	161.41
methamidophos*1	73.52	96.77	80.99	87.49	54.24
methidathion	106.96	138.82	65.98	85.34	43.44
monocrotophos	142.25	153.88	102.34	133.32	149.45
omethoate	93.95	115.25	87.00	104.06	104.61
parathion	104.87	168.50	135.63	187.75	164.37
parathionmethyl	124.41	127.63	99.44	95.52	113.55
phentoat	103.63	135.21	111.69	99.01	83.37
phorate	185.84	184.65	144.60	123.48	130.68
phosalone	93.52	117.91	119.18	126.61	188.76
phosmet	76.02	118.44	98.46	145.41	170.34
phosphamidone_(e)	109.31	165.82	128.23	104.79	89.30
phosphamidone_(z)	78.05	152.80	55.55	60.35	80.47
pirimiphos-methyl	136.50	157.74	109.03	93.38	100.07
profenofos	107.45	131.67	94.14	94.13	78.80
Propaphos (Kayaphos)	111.41	126.80	132.97	108.38	112.01
prothiofos	117.66	133.04	101.26	93.66	111.20
pyraclofos	116.10	129.51	116.25	178.91	127.29
pyridafenthion	96.52	117.46	106.69	118.75	167.29
quinalphos	123.17	131.02	126.65	104.44	137.36
salithion	179.29	170.03	132.79	104.59	129.65
sulprofos	103.72	122.75	103.08	96.95	111.23
terbufos	168.13	179.00	136.87	103.04	94.04
thiometon	187.36	182.22	146.26	110.29	128.37
tolclophos-methyl	138.15	153.37	112.74	93.73	103.22
vamidothion	103.19	147.18	110.52	165.84	159.22

\*1 LCMS/MS測定対象農薬

\*2 固相抽出の前にヘキサン/アセトニトリル分配による脱脂を行った。

表4 ソックスレー抽出による脂肪定量の結果

	餃子	いんげんまめ	鶏の唐あげ	ホークソーゼン	さばの塩焼き
脂質量%	11.23	0.31	10.22	21.90	27.68

表5 添加回収試験結果 (n=5)

Pesticide Name	Recovery (%)										LOD*3 µg/g
	餃子		いんげんまめ		鶏の唐揚げ		ポークソーシ*2		さばの塩焼き*2		
	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	
acephate*1	80.6	9.3	79.2	7.3	72.2	20.0	68.6	4.4	88.0	17.6	0.005
azinphos_methyl	93.8	5.8	86.4	5.9	80.0	5.5	93.0	9.4	66.2	7.7	0.02
bromophos_ethyl	76.6	3.6	93.1	5.4	84.8	6.4	67.5	3.0	66.3	4.8	0.002
butamifos	107.7	6.0	99.1	6.7	96.4	3.4	95.0	2.3	95.4	5.0	0.002
cadusaphos	97.1	6.2	91.1	8.9	97.1	3.1	87.8	10.1	93.4	2.4	0.002
chlorfenvinphos(e)	96.6	8.2	89.0	2.3	92.6	2.5	91.6	4.8	91.7	6.1	0.02
chlorfenvinphos(z)	95.3	3.0	92.4	2.2	93.1	2.7	94.9	4.9	92.4	2.3	0.002
chlorpyrifos_methyl	92.0	3.8	92.9	3.5	91.7	3.2	78.1	4.8	93.1	13.5	0.002
chlorpyrifos	87.0	4.8	96.3	4.9	86.4	3.2	72.3	7.1	77.4	2.4	0.002
coumaphos	108.9	8.5	92.9	5.3	76.4	4.8	77.1	6.2	85.5	13.3	0.005
cyanofenphos(CYP)	96.2	4.4	91.8	4.8	95.8	0.9	98.0	3.7	86.7	7.9	0.002
cyanophos	88.3	2.5	88.8	6.6	94.1	2.9	94.5	2.3	76.1	6.6	0.005
diazinon	96.5	4.7	93.0	5.7	95.6	2.9	84.1	5.1	89.1	2.6	0.002
dichlofenthion	87.8	3.6	93.9	5.7	94.2	1.7	73.0	10.5	73.8	1.5	0.002
dichlorvos	89.1	4.7	79.8	12.6	78.7	6.7	80.1	3.2	94.3	8.7	0.01
dimethoate	97.0	5.5	92.9	4.4	96.0	3.8	84.5	5.5	85.3	7.6	0.01
dimethylvinphos(e)	102.3	3.1	92.5	7.3	93.1	3.2	91.5	3.6	82.1	3.5	0.002
dimethylvinphos(z)	94.1	3.8	87.5	7.5	85.6	2.9	74.6	5.0	80.9	2.4	0.002
disulfoton	93.7	2.9	88.6	5.4	97.1	4.9	75.8	4.5	89.4	4.4	0.002
edifemphos	101.7	3.4	80.0	3.3	109.5	5.9	91.5	5.0	71.3	10.6	0.002
EPN	91.6	7.6	91.8	4.3	95.3	6.1	96.2	4.6	78.3	12.4	0.002
ethion	99.9	4.0	94.5	4.3	97.5	3.4	88.9	8.3	85.2	7.4	0.002
ethoprophos	95.6	3.4	91.6	6.9	95.8	4.1	90.9	9.5	91.9	1.8	0.005
etrimfos	91.3	4.7	85.7	7.4	90.8	3.6	84.6	10.3	78.1	3.0	0.002
fenamiphos	93.2	3.2	92.4	4.2	95.4	3.1	94.9	1.0	100.7	5.2	0.002
fenitrothion	95.8	3.6	88.7	5.6	94.5	2.8	93.5	3.2	81.4	3.9	0.002
fensulfothion	105.5	2.0	98.3	0.9	109.1	11.8	97.9	16.1	88.0	12.1	0.002
fenthion	91.6	5.2	95.1	4.8	97.9	4.7	96.8	2.7	83.1	4.8	0.002
formothion	78.1	4.7	81.1	4.6	84.3	5.0	73.5	5.1	75.4	7.6	0.005
fosthiazate	94.1	8.4	90.9	4.9	91.2	4.8	77.1	3.1	84.3	1.7	0.02
iprobefos	102.6	2.9	91.6	7.8	89.2	4.7	87.0	5.5	82.9	2.9	0.002
isofenphos	99.0	4.6	92.6	5.2	93.7	2.3	90.6	3.7	90.8	3.9	0.002
isoxathion	101.6	3.2	90.1	6.2	90.6	5.8	91.8	5.5	79.9	5.2	0.005
malathion	97.5	2.5	95.5	4.6	95.8	2.0	105.2	3.4	80.2	2.3	0.002
methamidophos*1	82.6	6.9	83.9	9.5	81.8	10.2	76.3	6.8	81.8	9.2	0.005
methidathion	84.7	5.7	102.1	7.6	99.5	6.6	71.3	3.2	86.5	4.2	0.005
monocrotophos	89.9	7.1	107.9	3.1	101.4	5.6	96.8	20.3	91.1	2.3	0.02
omethoate	89.2	8.5	78.8	12.0	72.9	3.7	75.4	3.7	96.2	9.1	0.04
parathion	91.5	8.3	83.9	4.3	96.7	4.1	101.5	7.2	97.8	3.0	0.005
parathionmethyl	99.5	5.6	89.6	3.8	89.1	5.5	95.0	1.9	72.5	3.8	0.005
phentoat	96.7	2.5	95.7	4.7	105.3	3.7	93.1	7.5	75.1	7.0	0.002
phorate	91.9	5.6	87.7	7.2	94.7	3.7	78.0	5.7	85.3	4.5	0.002
phosalone	99.6	3.5	99.0	2.6	97.9	11.8	87.1	8.5	88.8	10.0	0.002
phosmet	97.0	7.2	92.0	5.0	92.0	13.8	77.0	10.2	93.3	3.1	0.005
phosphamidone_(e)	96.6	4.1	98.3	5.5	93.7	3.1	88.9	4.6	85.5	6.7	0.02
phosphamidone_(z)	91.1	5.8	93.1	5.1	93.3	6.2	76.6	6.6	90.4	3.6	0.005
pirimiphos-methyl	93.6	5.3	94.7	3.3	98.9	7.8	81.1	4.1	80.9	3.0	0.002
profenofos	95.0	3.9	99.9	4.4	101.4	2.4	82.8	3.3	75.2	6.4	0.002
Propaphos(Kayaphos)	103.6	3.8	93.1	5.6	96.1	3.7	97.5	4.1	94.6	3.5	0.002
prothiofos	75.4	5.8	89.2	6.0	83.5	5.4	56.4	5.5	61.4	9.5	0.002
pyraclofos	105.4	11.0	102.9	3.0	92.9	6.2	83.3	3.2	82.1	3.7	0.005
pyridafenthion	97.2	3.4	93.1	5.1	96.9	6.5	86.4	5.1	78.0	8.0	0.002
quinalphos	91.2	3.7	90.5	7.8	95.9	2.8	84.2	5.5	84.7	4.7	0.002
salithion	96.3	2.5	90.9	9.3	97.9	3.3	93.7	10.6	85.5	4.0	0.002
sulprofos	90.5	4.5	94.2	5.2	95.7	5.9	76.7	2.3	75.5	2.4	0.002
terbufos	92.8	5.6	88.4	6.1	97.9	3.1	73.6	9.1	84.8	3.7	0.002
thiometon	94.7	3.5	84.0	5.7	96.7	3.0	80.8	6.9	90.5	3.3	0.002
tolclophos-methyl	91.4	3.3	94.8	4.9	95.6	4.3	81.5	4.7	81.6	4.3	0.002
vamidothion	88.4	6.4	89.2	7.7	85.4	5.2	78.8	4.9	90.9	2.3	0.04

\*1 LCMS/MS測定農薬

\*2 固相抽出の前にヘキサン/アセトニトリル分配による脱脂を行った。

\*3 検出限界 標準溶液を測定機器に注入したときS/N=10を示す最小濃度µg/mLを試料中濃度µg/gに換算したもの

\*4 背景がグレーの項目は回収率が70%未満または120%を超過、又はRSDが20%を超えたもの

### 3 結果及び考察

#### (1) 抽出法の検討

QuEChERS 法の文献<sup>1)</sup>では、アセトニトリルによる振とう抽出を採用しているが、振とう抽出により多種類の農薬について良好な抽出率を得るためには、試料を十分に細かく粉碎均一化する必要がある。

氏家らは、低極性から高極性の農薬について良好な回収率を得るためには振とう抽出に加え、試料をペースト状まで均一化できるバイオミキサーによる抽出が必要であるとしている。<sup>4)</sup>

加工食品の場合、検体によってはフードカッターが空回りして細切化が不十分である場合が見られたため、今回の検討では、試料 10g にアセトニトリル 10mL を加えた後ホモジナイザー (ultra turrax) による抽出を行うこととした。

#### (2) 精製操作

QuEChERS 法の文献<sup>1)</sup>では、遠心分離後のアセトニトリル抽出液に固相抽出に用いられている充填剤を直接混合して精製操作を行っている (バッチ法)。当研究所でも青果物中の揮発性が高い農薬について、QuEChERS 法の適用を検討し、バッチ法による精製を検討した<sup>5)</sup>が、サンプルによって色素成分や脂肪酸等の除去が十分でなく、分析カラムや分析機器のメンテナンス頻度が増す傾向が見られた。

また、バッチ法による精製では、試料液の濃縮の過程がないために、農薬によってはポジティブリスト制度での一律基準 0.01ppm の測定が困難な場合が見られた。今回、加工食品を検査対象とするにあたり、より精製効果を高め、濃縮率の高い試験液を得ることを目的として、精製の際に EnviCarb/PSA カラムを使用する固相抽出法を用いることとした。EnviCarb/PSA カートリッジをアセトニトリル/トルエン (3:1) 混液 10mL でコンディショニング後、各農薬 2.5 $\mu$ g を負荷し、アセトニトリル/トルエン (3:1) 混液 5mL ずつで溶出したところ、25mL までに今回検討した全ての農薬が溶出したため、溶出液量を 25mL とした。

#### (3) 試料中のマトリックス成分の影響

今回、試料中のマトリックス成分の影響を調べるため、各試料サンプルを前処理し、得られた試験溶液より、GC/MS 測定農薬については 0.5 $\mu$ g/mL (試料マトリックス濃度 5g 相当/mL)、LC/MS 測定農薬については 0.2 $\mu$ g/mL (試料マトリックス濃度 2g 相当/mL) マトリックス添加標準を調製し、溶媒で調製した標準液との面積値を比較した。結果を表 3 に示す。また、各サン

プル 5g を秤量し、ジエチルエーテルによるソックスレー抽出法で脂肪量を定量した結果を表 4 に示す。

LC/MS 測定農薬については、マトリックス成分の影響で感度が減少していた。GC/MS 測定農薬については面積比が 100% を超え、感度が上昇している農薬が多かった。試料中の夾雑成分が多い場合、GC/MS では注入口やカラムへの吸着、分解がマトリックスによって抑えられることにより、測定感度が上昇する現象が、LC/MS ではマトリックスの影響でイオン化の飽和が起こり定量目的とする成分のイオン強度が下がり、測定感度が低下する現象 (イオンサブプレッション) が生じるといわれている。今回測定結果でもその傾向が現れたと考えられる。

しかし、脂肪量の多かったサバの塩焼きとポークソーセージのサンプルでは、GC/MS 測定農薬でも、マトリックスの影響でジメトエート、プロモホスエチル、メチダチオンについては感度が減少し、エディフェンホス、ホスメットについては、ベースラインと重なりピークが消失する現象が見られた。SCAN 測定での TIC クロマトグラムでこれらの農薬の保持時間付近に脂肪由来の妨害ピークがあり、この成分が定量を妨害していることが感度低下の原因と考えられた。

そこで、脂肪量の多いサンプルについては、固相抽出の前にヘキサン/アセトニトリル分配による脱脂操作を加えることとした。その結果、脂肪の影響が減少しエディフェンホス、ホスメットのピークの検出が可能となった。図 2 にサバの塩焼き中のエディフェンホスの GC/MS 測定時のクロマトグラムを示す。また、これらの農薬について GC/MS/MS で測定したところ S/N 比が向上し、ピーク形状が改善した。マススペクトル上での定性確認も容易となった。図 3 にサバの塩焼き中のエディフェンホスの GC/MS/MS 測定時のクロマトグラムを示す。

マトリックスが各農薬の測定感度に影響を与えている傾向が見られたため、正確な定量のためには、マトリックス添加標準液やサロゲート等によりマトリックス効果を補正することが必要であると考えられた。

#### (4) 添加回収試験

表 5 に各冷凍加工品の添加回収試験 (n=5, 添加濃度 0.1 $\mu$ g/g) の結果を示す。回収率の算出にあたっては、各冷凍加工品のブランクサンプルから、マトリックス添加標準を調製し、定量を行った。

LC/MS 測定農薬 2 種 (アセフェート、メタミドホス) については、ポークソーセージ中のアセフェート (回

収率 68.6%, 相対標準偏差 4.4%)を除き良好な結果 (回収率 72.2-88.0%, RSD 20%以下)を得た。

GC/MS 測定農薬(54 種, 57 物質)については, アジンホスメチル, プロモホスエチル, プロチオホス以外の 51 種の農薬で良好な結果(回収率 71.3-109.5%, RSD20.3%以下)を得た。アジンホスメチル, プロモホスエチル, プロチオホスについては, 脂肪量の多かったポークソーセージとサバの塩焼きのサンプルで回収率が低下していた。(回収率 56.4%~67.5%)

QuEChERS 法による抽出時, 脂肪量の多いサンプルでは, 遠心分離後のアセトニトリル層の下に脂質層が形成される。この脂質層に農薬が吸着したこと, ヘキサン/アセトニトリル分配時に農薬がヘキサン層に分配されたこと, サンプル中の脂肪由来マトリックスによる定量の妨害等が回収率低下の原因として考えられた。

脂肪量の比較的少なかった(11.23%以下)餃子, いんげんまめ, 鶏のから揚げのサンプルについては, 全ての検討対象農薬について良好な結果(回収率 72.9-109.5%, RSD13.8%以下)が得られた。

#### (5) 検出限界

ポジティブリスト制度では, 加工食品自体に暫定基準の設定がない場合, 原則として一律基準 0.01ppm が適用されるため, 残留基準値レベルの検査の為に, 検出限界が 0.01ppm より低い濃度であることが求められる。今回の検討対象農薬について 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$  から 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$  の範囲で標準系列を作成し, 測定をおこない, 検出限界を求めた。検出限界はピークが S/N=10 の条件で確認できる最低濃度を検出限界( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )とした。検出限界( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )を試料中濃度( $\mu\text{g}/\text{g}$ )に換算した結果を表 5 に示す。

今回, 検討した 56 農薬, 59 物質中, 検出限界が試料中濃度換算で 0.01ppm 以下であった農薬は, 49 農薬 52 物質であった。

#### 4 まとめ

加工食品中の有機リン系農薬について QuEChERS 法を基に抽出し, 固相抽出ミニカラムで精製する迅速簡易な前処理方法を検討した。抽出に QuEChERS 法を採用することで塩析, 脱水を同時に行うことができ, 使用する溶媒量も少なくすることができた。また, 精製に固相抽出ミニカラムを用いることでバッチ法による精製に比べ精製効果が高まり, サンプルの濃縮が可能となり検出限界を下げるることができた。脂肪の多いサンプルについては, 脂肪由来の妨害成分により定量が妨害される農薬がみられるため, ヘキサン/アセトニトリル分配等の脱脂操作が必要であった。

添加回収試験において検討対象の 56 農薬 59 物質のうち, 52 農薬について良好な回収率が得られた。本法は, 加工食品中の有機リン系農薬分析法として有用であると考えられた。

#### 5 参考文献

- (1) M.Anastassiades,S.J.Lehotray,*et al*,  
AOAC Int., 86, 412-431 (2003)
- (2) M.Okihashi,Y.Kitagawa, *et al*,  
J Pesticide Sci., 30, 368-377 (2005)
- (3) M.Okihashi,Y.Kitagawa, *et al*,  
Food 1, 101-110 (2007)
- (4) 氏家愛子ほか, 宮城県保健環境センター年報,  
25, 58-61 (2007)
- (5) 京都市衛生公害研究所年報, 73, 133-141 (2007)

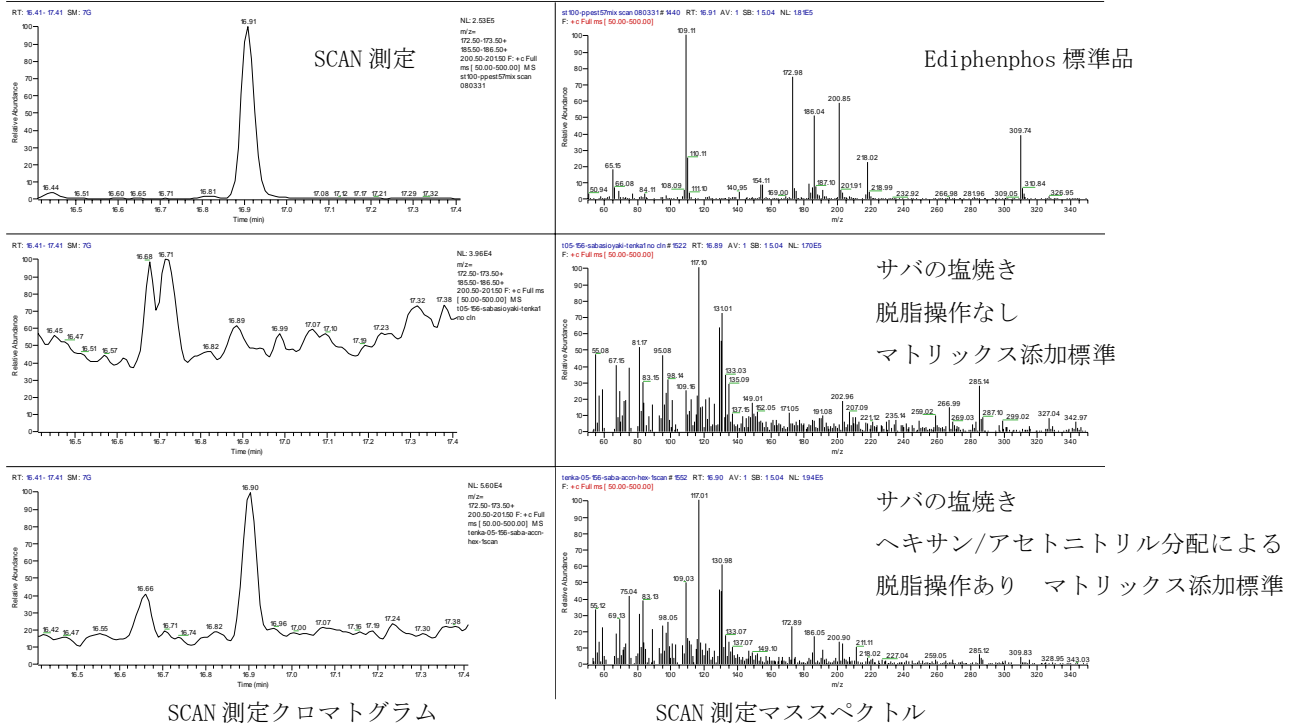


図2 サバの塩焼き中 Ediphenphos の GC-MS SCAN 測定のカロマトグラム及びマススペクトル

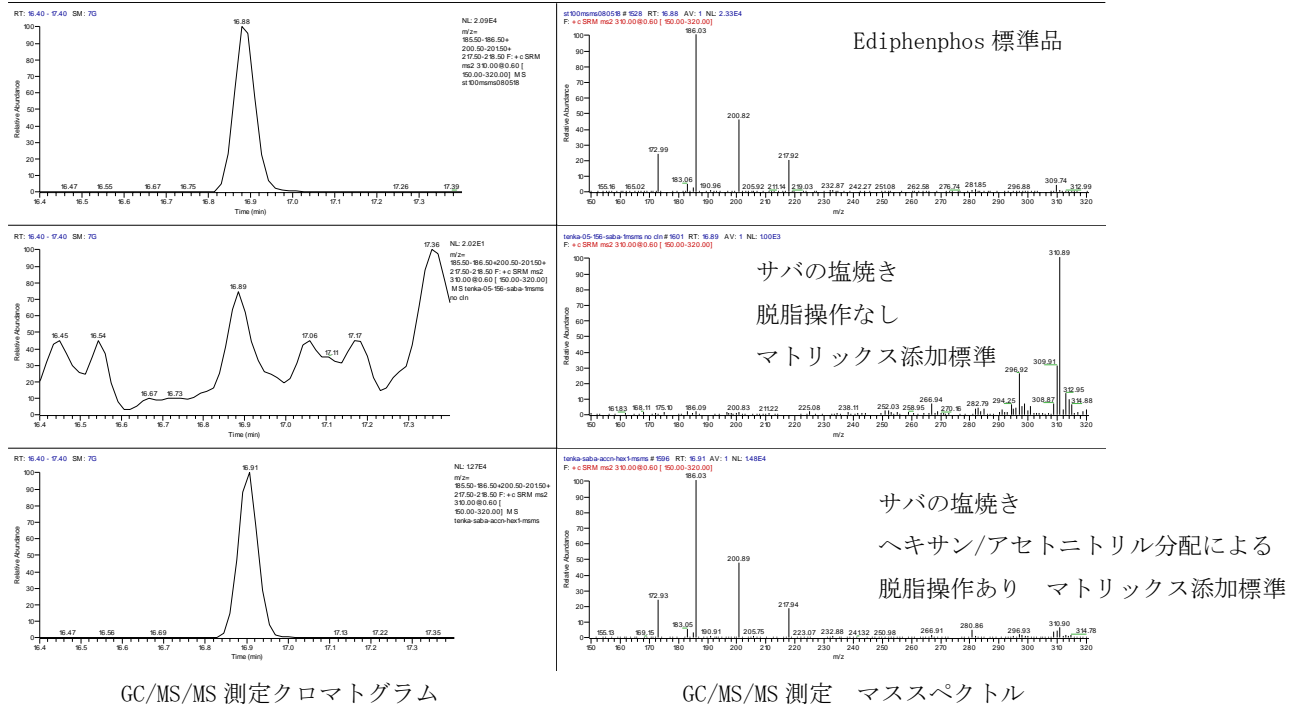


図3 サバの塩焼き中 Ediphenphos の GC/MS/MS 測定のカロマトグラム及びマススペクトル