

# 厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

## 総括研究報告書

### 食品中残留農薬検査の超迅速化に関する調査研究

主任研究者 佐々木久美子 国立医薬品食品衛生研究所 食品部第一室長

#### 研究要旨

農作物の残留農薬試験を効率化するために、残留農薬超迅速分析法に関する4課題の分担研究を実施した。

分担研究1では、超臨界流体抽出(SFE:Supercritical Fluid Extraction)条件を最適化し、SFEによる穀類中の残留農薬の一斉分析法を確立した。さらに、穀類試料に対するSFE法と従来の溶媒抽出法との比較を行い、検出された多くの農薬に対してSFE法が溶媒抽出法と同等の測定値を与えることを確認した。

分担研究2では、GC/MSによる農薬の多成分一斉分析法を検討した。アセトニトリル抽出液をゲル浸透クロマトグラフィー及びカートリッジカラムでクリーンアップ後、GC/MSで定性・定量する試験法について添加回収試験を実施して、問題点を明らかにするとともに、実用性のある解決策として対象作物毎にSIMプログラムを組むことを提案した。

分担研究3では、LC/MSによる食品中残留農薬の定性・定量法の確立を目指して、食品に残留した農薬の定性確認方法を検討し、定性条件の最適化を試みた。オキサミル、カルバリル及びメチオカルブについて標準品と当該農薬を残留した食品から得られた抽出試験液中の農薬のMSスペクトルを比較することにより、定性確認できることを明らかにした。

分担研究4では、(1)ELISAを用いた柑橘類中のイマザリル分析法を構築し、HPLC法との相関性を試験した。その結果、双方には、非常に高い相関が認められ、本法が日常分析法として高い有用性を有することが示唆された。(2)ピリミカーブについてELISA法の開発を行った。ヘテロログスなELISA測定系が、高感度化のための技術として有用な手法であることを例証するとともに、ピリミカーブの残留分析に応用可能なELISA法の基礎を構築した。(3)競合ELISA法のダイアゾンとアルジカルブの市販キットの有用性について検討した。

#### 分担研究者

佐々木久美子 国立医薬品食品衛生研究所

食品部第一室長

外海泰秀 国立医薬品食品衛生研究所

大阪支所 食品試験部長

永山敏廣 東京都立衛生研究所

生活科学部食品研究科主任研究員

中澤裕之 星薬科大学

薬品分析化学研究室 教授

毎年約20農薬が追加され、食の安全性確保に貢献している。しかし、多数の農薬について基準値への適合性を検査するには多大な労力と時間を要するため、生鮮食品が市場に流通する前に残留農薬検査を完了して、必要な行政措置をとることは困難な状況である。また、モニタリング検査においても検査項目を増やすことが困難な状況である。そこで、より迅速にかつ多数の農薬を検査できるよう、超迅速試験法を開発することを目的に研究を実施した。

#### A. 研究目的

食品衛生法による農作物中の残留農薬基準は179農薬に対して設定されているが、さらに

本研究では、1)超臨界流体抽出(SFE)を使用した試験溶液調製の自動化、2)従来の系

統分析法を改良した、GC/MSによる一斉分析法、3) LC/MSによる定性及び定量法の確立、4) 高価な分析機器を使用せずに、迅速、簡便に残留農薬を測定する方法として期待される免疫化学測定法、の4課題について研究した。

## B. 研究方法

### 分担研究 1

穀類試料における87農薬のSFE条件を最適化し、GC/MSで一斉分析する方法を検討した。さらに、各種農薬を含有した実試料について、SFE法と従来の有機溶媒抽出法とで128農薬を対象に分析して、分析値を比較した。

### 分担研究 2

110農薬のGC/MSによる一斉分析法について6作物で添加回収試験を実施した。さらに、作物毎のGC/MS(SIM)測定プログラムを作成した。

### 分担研究 3

オキサミル、カルバリル及びメチオカルブについてLC/MS測定条件の最適化を行い、標準品と当該農薬を残留した食品から得られた抽出試験液中の農薬のMSスペクトルを比較した。

### 分担研究 4

(1)柑橘類中のイマザリルのELISA分析条件を検討し、柑橘に添加したイマザリルのELISAとHPLCによる分析値を比較した。(2)活性エステル法により、ピリミカーブハプテンと西洋ワサビペルオキシダーゼ(POD)を結合させ、酵素標識化ハプテンを作製した。固相化抗体量とPOD-ハプテン量の至適量を求めた。ハプテンの種類を変え、測定系の高感度化を試みた。直接競合ELISA法におけるpH及びメタノールの影響を検討した。ピリミカーブ及びその類縁化合物との交差反応性を比較検討した。(3)ダイアジノン及びアルジカルブ分析用市販キットの標準品を検定した。ダイアジノン用キットの有機リン系農薬に関しての交差反応性を

検討した。8作物にダイアジノンを添加して、キットによる分析を行った。

## C. 研究結果

### 分担研究 1

SFE条件を最適化し、SFEによる穀類中の残留農薬の一斉分析法を確立した。さらに、実試料から検出された多くの農薬に対してSFE法が溶媒抽出法と同等の測定値を与えることを確認した。

### 分担研究 2

GC/MSによる農薬一斉分析法について添加回収試験を実施して、農薬の物性、分析操作及び測定に関連した問題点を明らかにした。解決策として対象作物毎のSIMプログラムを提案した。

### 分担研究 3

LC/MSによる食品中残留農薬の定性条件の最適化を試みた。オキサミル、カルバリル及びメチオカルブが残留した食品から得られた抽出試験液についてこれらの農薬を定性確認することができた。

### 分担研究 4

(1)柑橘類中のイマザリル分析に適用できるELISA分析条件を確立した。柑橘中イマザリルのELISAとHPLCによる測定値間には高い相関が認められた。(2)ピリミカーブのELISA分析について、ヘテロログスな測定系が高感度化のための有用な手法であることを例証し、ピリミカーブの残留分析に応用可能なELISA法の基礎を構築した。(3)ダイアジノン分析用キットのスクリーニング法としての有用性を確認した。

## D. 考察

(1)SFEが抽出手段として有用であることが穀類試料について証明されたので、さらに広範囲の食品試料への適用について検討し、簡

便かつ有効な抽出法として確立する必要がある。また、SFEをHPLCで測定する農薬にも拡大して検討する必要がある。(2)GC/MSによる一斉分析の精度向上のために本研究が役立つと考えられる。(3)LC/MSについては実試料での定性確認法としての有用性が3農薬で証明されたことから、さらに広範囲の食品/農薬の定性、さらには定量に発展できると考えられる。(4)ELISAによる柑橘中のイマザリル分析の実用性及びピリミカブの残留分析への応用が可能な免疫化学的測定系の基盤が整ったことから、さらに実用性について検証することによってスクリーニング法としてのELISAの優位性が立証できるものと考えられる。

上記の各研究をさらに発展させることによって分析操作の効率化と分析対象農薬数の拡大が可能な新しい試験法が確立できると考えられる。さらに、分析現場における有機溶媒使用量が削減でき、労働衛生上及び環境保全上も好ましいと考えられる。

## E. 結論

残留農薬超迅速分析法に関する下記の4課題の研究を実施し、残留農薬分析の迅速化、自動化、分析精度向上、スクリーニング分析等に有用な研究結果を得た。

- 1) 超臨界流体抽出(SFE)による分析法
- 2) GC/MSによる一斉分析法
- 3) LC/MSによる定性及び定量法
- 4) 免疫化学測定法

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

(1)吉井公彦, 津村ゆかり, 中村優美子, 石光進, 外海泰秀, 土屋鍛, 木村実加, 関口幸弘:  
超臨界流体抽出及びGC, HPLCによる穀類中残留農薬の多成分一斉分析法, 食品衛生学雑誌、40、68-74(1999)

### 2. 学会発表

- (1)根本 了、佐々木久美子、豊田正武、斎藤行生：農産物中の残留農薬分析に対する超臨界流体抽出の適用－穀類試料について－日本食品衛生学会第72回学術講演会(1996.10)
- (2) Nemoto, S., Sasaki, K., Toyoda, M., and Saito, Y.: Multiresidue Analysis of Pesticides in Grains by Supercritical Fluid Extraction and GC/MS(SIM Mode): 9th Annual California Pesticides Residue Workshop (1997.3.3-6)
- (3)外海泰秀、吉井公彦、津村ゆかり、中村優美子、柴田 正：超臨界流体抽出(SFE)-GC(GC/MS)による穀類中残留農薬の一斉分析法(2)、日本食品衛生学会第74回学術講演会(福岡、1997.10)
- (4)渡辺栄喜、土井菜津子、内木里香、渡部和恵、渡辺卓穂、中澤裕之、渡邊繁幸、林昌郎、湯浅洋二郎：ELISAによる柑橘類中イマザリル分析 日本食品衛生学会第76回学術講演会(新潟、1998.11)