

## 残留農薬検査における業務管理について

徳島県保健環境センター

堤 泰造・西田 朋代・坂本 充司  
久米田慶子<sup>1)</sup>

Operative Management on the Survey of Pesticide Residues in Agricultural Products

Taizo TSUTSUMI, Tomoyo NISHIDA, Mitsushi SAKAMOTO and Keiko KUMEDA

Tokushima Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

### Abstract

We presented the summary of SOP (Standard Operating Procedures) on our pesticide residue survey. The method in which residues were extracted with acetonitrile, cleaned up by ODS and PSA cartridges were adopted.

Pesticide residues were determined with 2 different GC/MSs, one is quadrupole type, another is iontrap type.

We discussed operative management of simultaneous multi-residue determination.

Key words: 残留農薬 pesticide residue, 業務管理 operative management

### I はじめに

食品衛生法では農産物ごとに農薬の残留基準が設定されている。平成12年までに199種の農薬について設定が完了しているが、国内で流通する農薬だけでも300種以上あるといわれ、今後とも基準設定農薬は増加し続ける見込みである。

一方、基準適合性を判定する試験法も国が公定分析法（告示法）として設定しており、総数は100以上に及んでいる。

単にモニタリング調査として残留農薬検査を行うのではなく、食品衛生検査として行うには、告示法の組合せだけで試験を設定するのは事実上不可能である。

食品衛生検査を行ううえで重要な要件として①食品 GLP に適合していること②有効な行政措置を取り得るよう一定期間内に検査が終了すること、の2点を挙げることができる。そのため、国や多くの検査機関でスクリーニング法としての位置づけの残留農薬一斉分析法が開発されている。<sup>1)~3)</sup>

しかし、これらの一斉分析法について、分析手法上の検討は種々行われているが、検査法の実運用・管理面での問題点等の検討については詳細な報告がなされていない。

1) 現 阿南保健所

我々が平成11年度から実施した検査の実状・経緯も踏まえて、これらについて報告する。

### II 一斉分析法の導入経緯

#### 1 一斉分析法の選択

一斉分析法の選択に際して、検査項目数より検査時間を優先させた。

その結果、平成9年厚生省から通知された残留農薬迅速分析法は①検査全体の所要時間が長い②GPC装置購入の予算措置が難しいことにより、短期間内の導入を見送った。

一斉分析法として種々検討した結果、最終的には兵庫県衛生研究所の秋山氏らの方法（食衛誌, 37, 351-362 (1996))を採用することとした。

#### 2 平成11年度の状況

平成11年度の検査手順等の概要は次のとおりである。

- (1) 検査項目：72~78農薬
- (2) 使用機器：島津 QP5000、各種ガスクロ
- (3) 1回あたりの検体数：同種農産物を最大10検体までとした

#### (4) 検査手順

- ① 同種農産物による添加回収率測定
- ② 検査項目の決定
- ③ 検体処理（試験溶液の調整）
- ④ GC/MS測定：SCAN, SIMの両モード
- ⑤ GCでの再測定：検出成分が定量下限以上となった場合
- ⑥ 公定法（告示法）による再検査：検出成分が基準の1/2以上となった場合

#### (5) 検査期間

検体搬入から基準値適合判定までの期間を1週間（または10日間）とした

### 3 平成11年8月の検査事例について

2に示した検査手順の前提として、検出率を0.6%と想定していた。すなわち、10検体延べ800項目中最大検出項目数を5以下と考えた。

しかし、平成11年8月の日本梨の検査において、この想定が覆される事態になった。

擬陽性検出成分を含め、検出成分は次のようになった。

（ ）中の数字は10検体中の検出検体数を表す。

#### <定量下限を上回った成分>

- ・キャプタン（10）
- ・フェンバレレート（6）
- ・カルバリル（3）
- ・ジコホール（2）
- ・フルバリネート（1）

#### <基準値の1/2を越えた成分>

- ・フェニトロチオン（1）

このうち、キャプタンについては基準が設定されていないが、検出濃度に関わらず、すべて告示法による再検査を実施した。

フェニトロチオンについても、告示法による再検査を1週間以内に実施したが、基準値以下であった。

### 4 一斉分析法導入に伴う問題点

一斉分析法を導入して、従来の検査に比べ検査項目数の増大と前処理（試験液の調製）時間の短縮が図られた。

しかし、検出成分が多い場合には、相対的にデータ解析（検出成分の同定・確認作業）に長時間を割く結果となった。

本県の残留農薬検査では、保健所が各管内の農協で出荷直後の商品を収去し、検査結果は農協を通じて、該当農家にフィードバックされている。そのため、たとえ定量下限に近い値であっても確実に同定できなければ成績書に記載できない状況にある。

もう一つの問題点として、GC/MS測定からデータ解析までを一人の検査員が担当し、これらの過程が十分にトレーサブルになっていない点である。

検査項目を増やしても、すべての項目が同等に証査されなければ、一斉分析法とは言い難い。

### 5 平成12年度における改善点

平成12年度の検査手順等の概要は次のとおりである。

- (1) 検査項目：110～120農薬
- (2) 使用機器：島津QP5000（EIモードのみ）、サーモクエスト ポラリス
- (3) 1回あたりの検体数：同種農産物を最大5検体までとした
- (4) 検査員：使用機器ごとに配置（検査員A及びB）、検査ごとに交代する
- (5) 検査手順
  - ① 同種農産物による添加回収率測定
  - ② 検査項目の決定
  - ③ 検体処理（試験溶液の調整）
  - ④ GC/MS測定(A)：島津QP5000 SIMモード
  - ⑤ GC/MS測定(B)：ポラリス SCANモード
  - ⑥ A:Bヘデータシート提出
  - ⑦ B:SCANモードデータの確認
  - ⑧ B:EIモードでのMS/MS測定
  - ⑨ B:CI(NCI)モードでのMS及びMS/MS測定
  - ⑩ B:Aヘデータシート提出
  - ⑪ A:SIMモードによる定量(B:定量)
  - ⑫ 公定法（告示法）による再検査：検出成分が基準の1/2以上となった場合

平成11年度にはGCで再測定（確認）していた手順をイオントラップ型GC/MSに置き換えた。これにより、検出成分の同定能力が飛躍的に向上した。

また、検査員がデータシートを交換することで、GC/MS測定以降の過程がブラックボックス化するのを防止できた。

### Ⅲ 残留農薬一斉分析法（スクリーニング法）

<検査実施標準作業書(SOP)からの抜粋及び解説>

#### 1 検査スケジュール

表-1に標準的な検査スケジュールを示した。

#### 2 試料

試料は搬入後直ちに二分し、一方を未細切のまま冷凍保存し、一方をフードプロセッサー（ナショナルMK-K55）で細切、試験に供する。

表-1 標準検査スケジュール (最長例)

	月	火	水	木	金
第1週					検体搬入 (1日目)
第2週	試験溶液の調製 ●-----●		基準の1/2を超えた場合 ●-----●		公定法での再検査 ●-----●
	島津(GC/MS) ● サーモ(GC/MS) ● (4日目)	SIM ● EI(SCAN) ● (5日目)	データ解析 ● EI(MS/MS), PCI(SCAN・MS/MS), NCI(SCAN・MS/MS) ● (6日目)	(7日目)	(8日目)
第3週	試験成績書作成 (11日目)				

### 3 標準品・試薬

- ・使用する試薬は、残留農薬試験用有機溶剤及び試薬特級を用いる。
- ・残留農薬試験用標準品（原体）は和光純薬工業(株)製、関東化学(株)製、林純薬工業(株)製を用いる。
- ・残留農薬試験用混合標準品（溶液）は関東化学(株)製「農薬混合標準液」を用いる。
- ・標準品原液は原則として、500ppmに調製する。
- ・関東化学(株)製「農薬混合標準液」以外の混合標準液調製方法  
「有機リン系」「含窒素系」「有機塩素系」の3グループに分ける。グループ内で、さらに8~10種類ずつの小グループに分け混合標準液を調製する。
- ・GC/MS測定（定性）用混合標準液（最終混合液）調製方法  
グループ内の混合標準液どおし（関東化学(株)製も含む）を混合し最終混合液を調製する。
- ・GC/MSでの定量には、用時調製した単独標準液を用いる。

試薬の調製は、図-1のようなワークシートを用意し、調製手順の確認と記録を行う。このワークシートは調製時のみならず、次回検査時にも目を通すことを想定しているので、「特記事項」欄の記載と活用を検査員に指導する。

### 4 装置

- (1) ガスクロマトグラフ質量分析計：GC-17+QP5000 (株)島津製作所)
- (2) ガスクロマトグラフ質量分析計：ポラリス（サーモクエスト(株)

#### 食塩飽和2Mリン酸緩衝液 (pH7) 調製記録表

##### <標準調製法>

- 1) 100ml 保存ビン(SPC29)に予め100mlの液量のところにマジックで線を入れておく。
- 2) リン酸二水素カリウム(特級)12.1gを1)の容器に秤取りし、蒸留水約50mlを加え、スターを使用して溶解する。(完全には溶解しない)
- 3) リン酸水素二カリウム(特級)21.1gをデイスの秤量皿に秤取りし、2)の容器中に添加し、完全に溶解させる。(水を10~15ml追加使用)
- 4) 塩化ナトリウム(残留農薬試験用)約20gをデイスの秤量皿に秤取りし、3)の容器に添加する。
- 5) pHを確認しながら、10N KOHを1mlずつ追加、pHを7.0に調整する。(目安量3ml)
- 6) 蒸留水を加えて全量を100mlとする。
- 7) pHが7.0であることを確認する。1検体に付き10ml使用。

	Lot No.	秤取量	その他 特記事項等
リン酸二水素カリウム			
リン酸水素二カリウム			
塩化ナトリウム			
10N KOH	添加量		pH=
調製日	調製者	調製量	廃棄日 廃棄者 備考

図-1 試薬・試液調製記録表 (例示)

- (3) ロータリーエバポレーター：ロータベイパー RE121 (BÜCHI)+KNF 真空制御ユニット (KNF)
- (4) 高速自動濃縮装置：ターボバップII (ザイマーク)

### 5 器具

使用するガラス器具は残留農薬ヘキサンの洗浄、操作行程別に分けてステンレス網かごに入れておく。

### 6 試験溶液の調製

秋山らの方法に準じて行った。

調製操作に用いたワークシートは、表-2のとおりで、表中の器具名は操作前の器具確保のために記載した。

このワークシートは操作時のみならず、次回検査時にも目を通すことを想定している。

## 7 GC/MS 測定条件

(1) 島津 QP5000 (以下、QP と略す)

カラム：HP-5 MS (30m×0.25mmi.d. 膜厚0.25μm)

カラム温度：50℃ (2 min)→10℃/min→280℃ (15min)

注入口温度：250℃，インターフェース温度：270℃

検出器電圧：1.7kV

キャリアーガス：100kPa (2 min)→2 kPa/min→150 kPa (13min)

注入量：1 μl (スプリットレス注入法)

サンプリング時間：2 min

(2) ポラリス (以下、IT (イオントラップ) と略す)

カラム：Rtx-5 MS (30m×0.25mmi.d. 膜厚0.25μm)

カラム温度：50℃ (1 min)→25℃/min→125℃→10℃/min→300℃ (7 min)

注入口温度：260℃，イオン源温度：200℃，トランスファーライン温度：260℃

キャリアーガス：1 ml/min

注入量：1 μl (スプリットレス注入法)

サンプリング時間：1 min

## 8 GC/MS (QP) での測定・解析

島津 GC/MS での測定・解析手順 (フローシート) は、図-2 のとおりである。

またサーモクエスト GC/MS オペレーターに提出するデータシートは、表-3 のとおりである。

## 9 GC/MS (IT) での測定・解析

サーモクエスト GC/MS での測定・解析手順 (フローシート) は、図-3 のとおりである。

また島津 GC/MS オペレーターに提出するデータシートは、表-4 のとおりである。

## 10 検査結果のまとめ

試料ごとの各 GC/MS 測定結果及び公定法による再検査結果は、表-5 のワークシートに集計する。

## IV 今後の改善点

### 1 標準溶液の管理

検査項目が増大するほど、標準溶液の管理が難しくなる。また、定性 (リテンションタイム確認) 用として市販の混合標準溶液を使用しているが、種類が少ないため検査項目すべてをカバーするまでには至らず、混合標準溶液を自家調製しており、相当の手間を要している。今後、新製品の供給が望まれる。

表-2 試験液調製操作記録表 (1/2)

操作フロー	記録 室温	年 月 日			検査員					備考	
		湿度									
①試料秤量 300ml マイヤー (SPC34)、テフロンコート フットプレートで均一に破碎した試料 50g 精秤	検体番号										
②アセトリル抽出 100ml (抽出 80ml・洗い 20ml) 100ml メスシリンダー 振とう機:15 分間 (260 回/分)	精秤量 (g) スタート時刻	g	g	g	g	g	g	g	g		
③ろ過 (5A 濾紙) φ60 桐山ロト、受器 200ml マイヤー (SPC24)、吸引鐘 (VKU-500)		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
④ODSカラム負荷 GL-SPE 吸引エレメント、PFA チューブ (1/16×1/8) フィルター C18 (EC) (1g、6ml) 受器 200ml エカヒター ソフティエンク 1) アセトリル 5ml×2 回 2) 蒸留水 5ml×2 回 分取液 ③のろ過液		1) <input type="checkbox"/> 2) <input type="checkbox"/>	1) <input type="checkbox"/> 2) <input type="checkbox"/>	1) <input type="checkbox"/> 2) <input type="checkbox"/>	1) <input type="checkbox"/> 2) <input type="checkbox"/>	1) <input type="checkbox"/> 2) <input type="checkbox"/>	1) <input type="checkbox"/> 2) <input type="checkbox"/>	1) <input type="checkbox"/> 2) <input type="checkbox"/>			
⑤振とう操作 (塩析) 300ml 分液ロト、ロト 1) NaCl 飽和リン酸緩衝液 10ml 2) NaCl 15g 振とう機:5 分間 (250 回/分)		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
⑥アセトリル層 (上層) 分取 200ml マイヤー (SPC24)、100ml メスシリンダー アセトリル層を 60ml 量り取る		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
⑦無水硫酸ナトリウム脱水 足太ロト、20ml ビーカー		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
⑧ろ過 (5C 濾紙) φ40 桐山ロト、受器 200ml ナスカ (SPC24)、吸引鐘 (VKU-500)		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
⑨減圧濃縮 40℃以下 (120mbar/hPa) エバポレーター、溶媒回収装置 2~3ml ぐらいでエバポレーター濃縮を止め、N <sub>2</sub> ガスで乾固直前まで濃縮		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		

表-2 試験液調製操作記録表 (2/2)

①残留物 10ml 目盛付遠沈管、ハースローンク n-ヘキサン:アセトン(1:1) 3ml に溶かす(遠沈管の目盛で 3ml)	検体番号						備考
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
①遠心分離 3000 回転, 5 分間		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
②カラム精製 分注器(ワックスマ 831)、ハースローンク、GL-SPE 吸引マニピュレーター ボンドエルト PSA(500mg, 3ml) 受器 50ml ナスビ コンディション n-ヘキサン:アセトン(1:1) 3ml*2 回 分取液 1) ①の上澄液 2ml 2) n-ヘキサン:アセトン(1:1) 3ml*3 回		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
③減圧濃縮 40°C以下(300mbar/hPa) マニピュレーター、溶媒回収装置 2~3ml ぐらいでマニピュレーター濃縮を止め、N <sub>2</sub> ガスで乾固直前まで濃縮		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
④試験溶液 2ml 褐色有栓試験管、ハースローンク、ドテント #385 予め褐色有栓試験管にトリアニリン酸(5µg/ml)(感度補正用内部標準物質)を 0.2ml、内部標準物質混合液(2µg/ml)(Rt.補正用)を 0.1ml 添加しておき、n-ヘキサン:アセトン(4:1)でナカシ残渣を洗い込み、試験管の目盛で 2ml に定容する	終了時刻	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
次回検査時の参考(引継)事項		所要操作時間: 時間 分					

## 2 試験溶液調製法のモジュール化

検査項目が増加するにしたがって、対象成分と妨害成分、あるいは対象成分どうしの分離が困難となっている。すべての対象成分の高分離度が保証され、かつ高回収となる調製法は期待できないのが現実である。

しかし、GC/MS 測定で MS/MS モードの選択が可能となったことで、試験溶液調製過程で高度の精製が必ずしも必要でなくなった。このことは、試験溶液調製法を固定的にとらえるのではなく、交換・選択可能なモジュールとして、将来複数の調製法が活用できることを示唆している。

## 3 GC/MS(SIM) 測定での False Negative への対応

現在設定している SIM 条件は非常に過密になっているため、現時点あるいは検査項目を増やした場合、条件設定や夾雑成分に起因する False Negative (農薬が残存しているにも関わらず検出されないこと) が皆無であることは保証されていない。

現在、四重極型 GC/MS によるスクリーニングとイオントラップ型 GC/MS による確認を測定指針としているが、

今後は四重極型 GC/MS とイオントラップ型 GC/MS 双方でのスクリーニングと両者の定量データのつきあわせも必要であると考えている。

## V おわりに

食品衛生法のもとでの残留農薬検査は、極言すれば Audit Trail と High Throughput の 2 語に行き当たる。しかも両者を両立させることが困難であるのも事実である。しかしながら我々は、微力ではあるがこの目標に向かって努力しているところである。

我々の残留農薬検査は改善途上ではあるが、様々な観点からのご批判、ご指導を頂き糧としたいという趣旨で、今回報告したことをご理解頂きたいと願っている。

## 文 献

- 1) 秋山由美, 他: 食衛誌, 37, 351-362 (1996)
- 2) 厚生省通知, 平成 9 年 4 月 8 日, 衛化第 43 号
- 3) 根本 了, 他: 食衛誌, 41, 233-241 (2000)

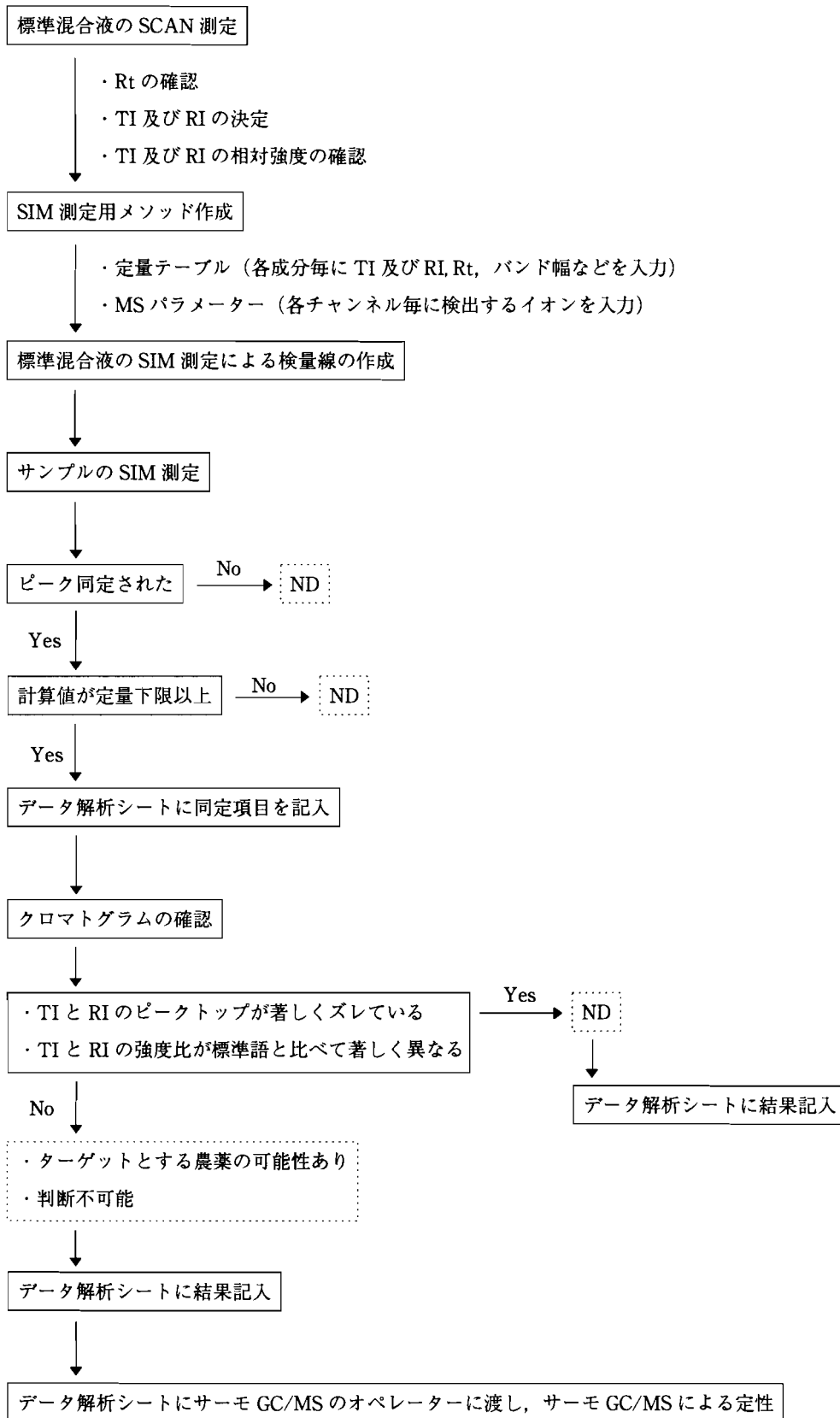
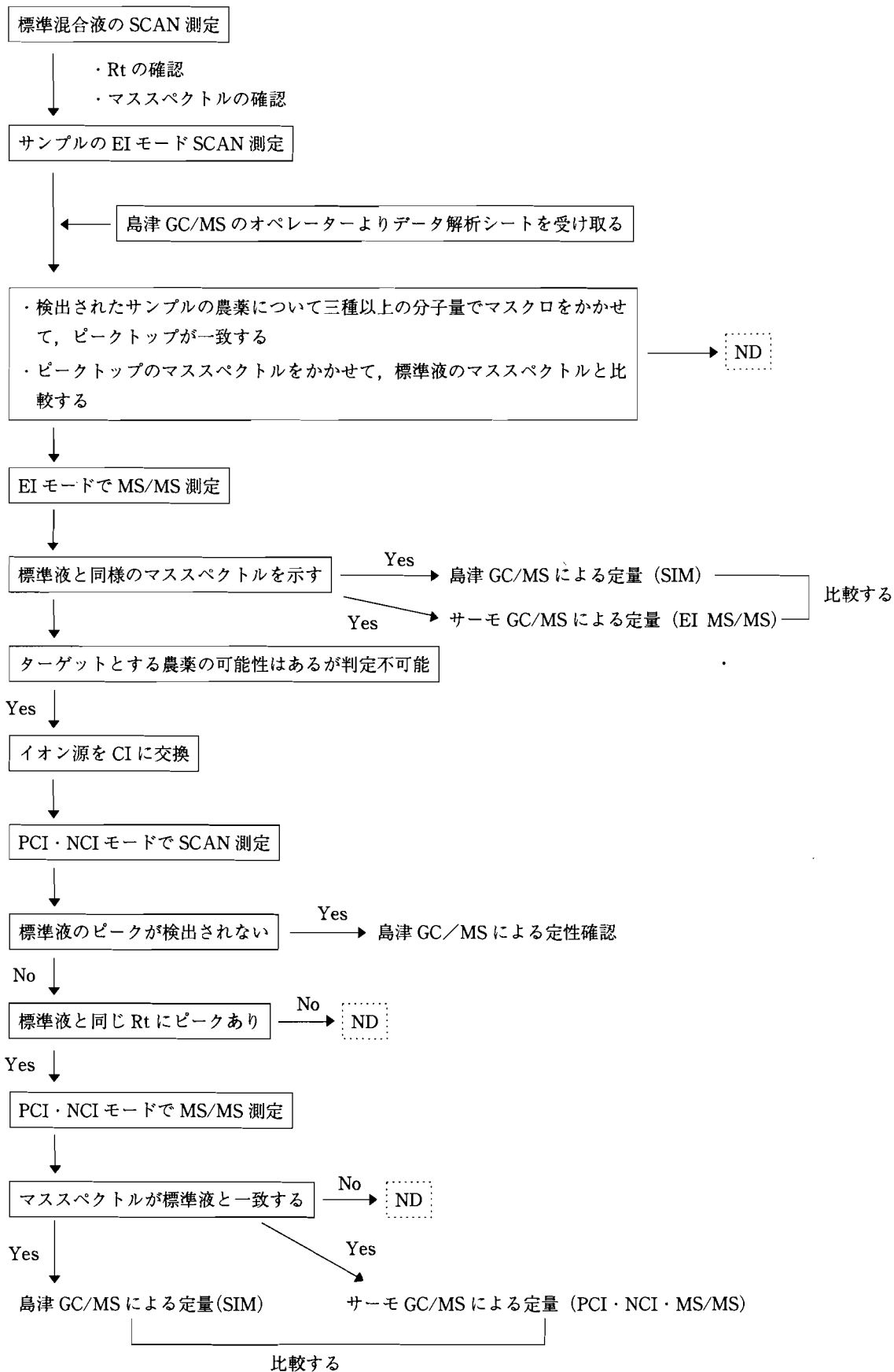


図-2 島津 GC/MS での測定・解析手順



サーモ GC/MS の各モードで SCAN 測定，MS/MS 測定を行うときは，標準液と連続分析を行い比較する

図-3 サーモクエスト GC/MS での測定・解析手順





表-5 残留農薬測定結果集計表

サンプル名: \_\_\_\_\_

<GC/MSによる定量>

記録日 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日 ~ \_\_\_\_\_ 日

記録者 \_\_\_\_\_

検出農薬名	島津QP(SIM)	サモIT		採用した計算値(ppm・ppb)	定量に用いたイオン質量数	農産物中濃度(μg/g)	基準値(μg/g)	公定法による再測定	備考
	計算値	モード	計算値						
								<input type="checkbox"/>	
								<input type="checkbox"/>	
								<input type="checkbox"/>	
								<input type="checkbox"/>	

注) サモITのモードの欄には、EI・PCI・NCIの区別と、マシカ・MS/MSの区別を記入すること

<公定法による再測定>

記録日 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日 ~ \_\_\_\_\_ 日

記録者 \_\_\_\_\_

検出農薬名	(確認) 島津QP	島津GC-14B・GC-17A		計算値(ppm・ppb)	農産物中濃度(μg/g)	基準値(μg/g)	備考
		検出器 ECD・FPD・FTD					

その他・特記すべきこと

	年 _____ 月 _____ 日      検査区分責任者 _____
--	--------------------------------------