

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 29 日現在

機関番号：84407

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590677

研究課題名（和文）迅速かつ簡便な加工食品中の残留農薬一斉分析法の開発

研究課題名（英文）Rapid and easy multiresidue methods for determination of pesticide residues in processed foods

研究代表者 高取 聡（TAKATORI SATOSHI）

大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 主任研究員

研究者番号：90311480

研究成果の概要（和文）：多岐にわたる加工食品を高脂質食品、低脂質食品、準農産物、ノンアルコール飲料及びアルコール飲料に分類して、これらに適用できる迅速かつ簡便な残留農薬一斉分析法を構築した。当該分析法を活用して市場に流通する加工食品中の残留農薬を分析した結果、食品衛生法の基準を超過する農薬を含む加工食品を検知し、販売者に自主回収を促した。また、消費者からの要請に基づいて風味異常を呈した食品から原因と推察される農薬を検出し、当該分析法の実用性を証明した。

研究成果の概要（英文）：Rapid and easy multiresidue methods for determination of pesticides residues in processed foods were developed. These methods were applicable to the monitoring of pesticides residues in processed foods in markets and detected a case of over the maximum residue limit. Furthermore, these methods were able to detect a pesticide from processed foods with foreign taste. Thus, these methods would be useful for monitoring pesticides residues in processed foods.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：食の安全、残留農薬、加工食品、一斉分析法

1. 研究開始当初の背景

2007年末から2008年初頭にかけて、有機リン系農薬によって汚染された中国製輸入冷凍餃子を喫食したことによる健康危機事例が発生した。農産物中に残留する農薬については、食品衛生法に残留基準（基準値）が明記されており、基準値を超える農薬が残留した農産物が流通しないよう、検疫所及び各

都道府県の衛生研究所等において検査が実施されている。しかし、餃子等の加工食品には、一部の食品を除いて基準値が設定されておらず、加工食品中の残留農薬は、殆ど検査されていないのが実状であった。上記の餃子の事例以降、飲料中への除草剤混入事例や中国での乳製品中へのメラミン混入事件など、加工食品に対する国民の不安が高まってお

り、沈静化した傾向はあるものの、その状況は続いている。我が国は、カロリーベースで約60%を輸入食品に依存し、国民が望む「より便利な食生活」に呼応して、市場では多様な加工食品が大量に生産され流通している。しかし、農産物の残留農薬に対する規制が強化される一方で、加工食品に対する残留農薬の検査は、軽視され続けてきた。加工食品中の残留農薬の分析法については、一部の加工食品とベビーフードを対象とした方法しか見当たらない状況であった。また、その分析工程は煩雑であり、多数の検体のスクリーニング方法には不向きである。すなわち、加工食品中の系統立てた残留農薬一斉分析法は存在しないのが実状であり、迅速かつ簡便な加工食品中の残留農薬一斉分析法の開発と検査の実施は、食の安全に対して不安が高まっている状況において急務であった。

2. 研究の目的

研究目的は、多様な加工食品を水分、脂質、タンパク質、糖分及び塩分等の含有量を考慮して系統的に整理し、その系統に基づいた迅速かつ簡便な加工食品中の残留農薬一斉分析法を構築することである。また、市場に流通する加工食品中の残留農薬の実態を明らかにし、我が国の加工食品中の残留農薬の検査体制の構築に役立つ情報を提供する。

加工食品の多くは、農産物と比較して、水分含量が低く、脂肪、糖分及び塩分等の農薬の分析を妨害する成分を多く含むため、従来の農産物を対象とした残留農薬の分析法では対応が困難な例が多い。また、飲料については、アルコールの含有による影響を考慮して、別の前処理方法を考案する必要がある。しかし、これまで多様な加工食品に対して、その特性毎に系統立てた分析法は考案されていない。そこで、研究者らは加工食品をその特性毎に整理し、それぞれに適用できる迅

速かつ簡便な残留農薬分析法を構築し、その妥当性を検証する。また、本法を活用して市場に流通する加工食品中の残留農薬の実態を明らかにする。研究者らは、Anastassiades M. らによって開発された迅速な農産物中の残留農薬一斉分析法 (QuEChERS 法) を改良し、独自の迅速かつ簡便な一斉分析法を構築し、行政検査に活用している。当該分析法の特徴は、ディスパーザブルのポリプロピレン (PP) 製遠心管内で溶媒抽出を行い、塩化ナトリウム及び無水硫酸マグネシウムによる塩析・脱水を行い、回収された有機層をそのまま固相で精製して少ない器具で迅速に試験液を得ることである。研究者らは、この分析手法を新たに構築する加工食品中の残留農薬一斉分析法に活用することとした。さらに、構築した分析法を適用し、市場に流通する加工食品中の残留農薬の実態を明らかにする。なお、使用する分析機器は、質量分析計付ガスクロマトグラフ (GC-MS)、タンデム型質量分析計付ガスクロマトグラフ (GC-MS/MS) 及びタンデム型質量分析計付高速液体クロマトグラフ (LC-MS/MS) とした。

3. 研究の方法

加工食品の特性に応じて系統的に分類し、分析法を構築した (図)。加工食品を飲料以外 (A; 固形分を主体とする食品群) と飲料 (B) に大別し、(A) については、機器分析上の障害となる脂質を多く含む食品 (A-1; 高脂質食品/餃子等の中華総菜、カレー、揚げ物及び食肉製品等)、脂質は多く含まないが水分含有量が低く溶媒抽出工程に支障がある食品 (A-2; 低脂質食品/漬け物、ジャム、ドライフルーツ、調味料) 及び生鮮農産物と同様の分析工程を適用することが可能と予測される食品 (A-3; 準農産物/ゆで野菜、米飯及び麺等) に分類し、(B) について

は、アルコールを含むため溶媒抽出工程に支障がある飲料（B-2；アルコール飲料／ワイン、日本酒、ビール及び蒸留酒等）及びノンアルコール飲料（B-1；果汁、茶、乳及びコーヒー等）に分類して分析法を検討した。また、構築した分析法を適用して市場に流通する加工食品中の農薬の残留実態を調査する。

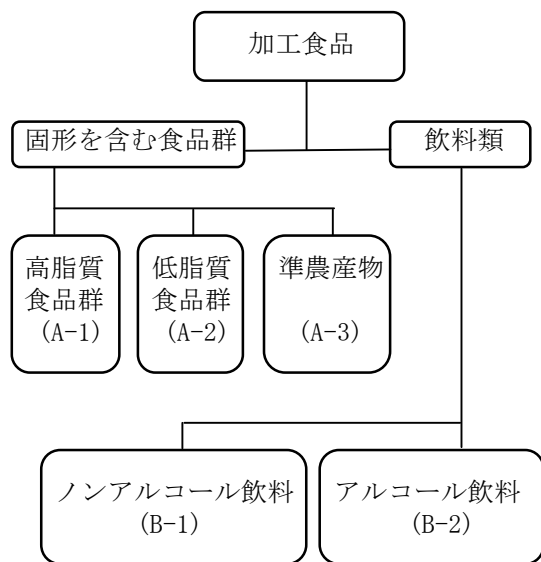


図 残留農薬分析のための加工食品の分類模式図

4. 研究成果

(1) 高脂質食品中の残留農薬分析 (A-1)

餃子、カレー、揚げ物及び食肉製品等は、農産物と比較して水分含量が低く、脂肪、糖分及び塩分等の農薬の分析を妨害する成分を多く含むため、従来の農産物を対象とした残留農薬の分析法では対応が困難な例が多い。特に脂質は、GC-MS あるいは LC-MS/MS を用いた分析工程において大きな支障となることから、脂質除去工程を組み込むこととした。この脂質除去工程としては、特殊な機器が不要であり、操作が簡便であるアセトニトリル／ヘキサン分配法を採用した。脂質中に取り込まれた農薬を効率的に抽出できるよう、抽出溶媒には脂質との相溶性に優れる酢酸エチルを採用した。更に抽出容器に 50mL の PP 製遠心管を採用にした。これにより、

洗浄が必要なガラス器材の使用量を減らすことができ、加えてそのまま遠心分離操作に移ることができるため、一連の分析操作に要する労力を軽減することが可能となった。構築した分析法の概要は、以下の通りである。
①無水硫酸マグネシウム加えて酢酸エチルで抽出する。②酢酸エチルを留去しヘキサンに再溶解する。③アセトニトリルを加えてアセトニトリル／ヘキサン分配による脂質除去する。④アセトニトリルをグラファイトカーボンブラック／PSA (GCB/PSA) カラムで精製する。⑤濃縮定容して機器分析する。

当該分析法を活用して、市場に流通する高脂質食品 (75 品目) 中の残留農薬を調査した。その結果、ポテトフライからクロロプロファムを検出したが、これを含めて全ての食品は食品衛生法の基準に適合していた。また、大阪府民から要請のあった食事の異常風味について、当該分析法を活用して原因を調査した。その結果、食事に含まれる惣菜から施設の殺虫処置に使用する薬物を検出し、当該事案の原因究明に役立った。

(2) 低脂質食品中の残留農薬分析 (A-2)

漬け物、ジャム、ドライフルーツ等の食品は、農産物と比較して水分含量が低く、脂肪含有量は低いものの糖分及び塩分等の農薬の分析を妨害する成分を多く含み、特にジャムやドライフルーツ等の粘稠性が高い食品については、抽出溶媒との混合性が悪いため注意を要する。そこで生鮮農産物中の残留農薬分析法において、試料を予め精製水で希釈して流動性を高めつつ、同時に糖分及び塩分等の影響を緩和する方法を適用することとした。構築した分析法の概要は、以下の通りである。
①試料と等量の精製水を加えてアセトニトリルで抽出する。②塩化ナトリウムと無水硫酸マグネシウム加えて脱水・塩析する。
③アセトニトリルを GCB/PSA カラムで精製す

る。④濃縮定容して機器分析する。

当該分析法を活用して、市場に流通する低脂質食品（74品目）中の残留農薬を調査した結果、漬け物から食品衛生法の基準を超過するパクロブトラゾールを検出した。確定検査実施後、当該漬け物は自主回収され、法に適合しない食品の市場からの排除に役立った。

(3) 準農産物中の残留農薬分析 (A-3)

生鮮農産物を軽い湯通し等の冷凍野菜等の加工食品は、一般的な農産物中の残留農薬分析法を適用できるため、加工食品中の残留農薬分析法の検討対象から省いた。炊飯した米飯等の加工食品の組成は単純であるが、でんぷん質による粘稠性のため、試料の均一化が困難であり、その後の抽出工程での溶媒との混合性が極めて悪い。この粘稠性を緩和するためにフードプロセッサーを用いて試料を均一にする工程で規定量の精製水を加えて粥状にすることとした。これにより試料の均一化の問題と溶媒との混合性の問題の双方を解決することが可能となった。なお、分析法は、米飯等の脂質の少ない場合、上記のA-2を適用できる。脂質を多く含む米飯加工食品等については、上記のA-1を適用できる。

(4) ノンアルコール飲料中の残留農薬分析

(B-1)

飲料については、多種多様であるが共通して大部分が水分であるため固形の食品と比較して様に妨害成分の量も少ないと考えられる。脂質については、乳に数%程度含まれることから、その影響に注視しつつも生鮮農産物中の残留農薬分析法に使用するQuEChERS変法を適用することとした。なお、試料が液体であることから、より簡便性を高めるため、溶媒抽出工程では、ホモジナイザーを使用せず、複数の試料を併行処理することができる振とう機を使用することとした。構築した分析法の概要は、以下の通りである。

①試料をアセトニトリルで振とう抽出する。
②塩化ナトリウムと無水硫酸マグネシウム加えて脱水・塩析する。③アセトニトリルをGCB/PSAカラムで精製する。④濃縮定容して機器分析する。

(5) アルコール飲料中の残留農薬分析(B-2)

アルコール飲料中の残留農薬の分析においては、含まれるアルコールの抽出あるいは精製工程における影響を考慮し、その影響を回避する必要がある。すなわち、アルコール飲料中のアルコール濃度も幅広いいため、残留農薬の分析工程で、どの程度のアルコール濃度において影響があり、どの様に対応すればよいか客観的に検証することが重要である。今回、ぶどう果汁に規定のエタノールを添加して調製した模擬アルコール飲料を用いて残留農薬の分析工程でのアルコール濃度の影響を検証した。その影響を考慮してアルコール飲料中の残留農薬の分析法を確立した。

アルコール飲料において、試料を精製水で希釈しないで抽出した場合、アルコール度数の増加に伴い、農薬の回収率の低下が認められた。特にアルコール度数が30%以上で回収率の低下が顕著であった。試料を精製水で希釈して抽出した場合、回収率の低下が回避された。飲料中のエタノールが分析に影響することが推察されたため、模擬アルコール飲料を調製してエタノールの影響について検証した。その結果、アルコール飲料での回収率低下の原因は、農薬の抽出効率の低下によるものではなく、エタノールが有機相の体積を増加させることに起因すると考えられ、その回避には抽出に先立ってエタノール濃度が10%以下になるよう試料を精製水で希釈することで対応可能であった。構築した分析法の概要は、以下の通りである。①エタノール濃度が10%以下になるよう試料を精製水で希釈する。以下、(B-1)に同じ。

(6) 精度管理試料の考案

加工食品は、複数の食材が混在する、または、煩雑な加工工程を経ており、食品衛生法の基準適合性について、慎重に判定する必要がある。個別の基準が設定された加工食品は少なく、大半は原則として一律基準（0.01 ppm）が適用される。しかし、加工食品を構成する食品原料が食品衛生法で定める規格に適合している場合には、一律基準超過によらず適合するものとみなされる。このため製品の加工食品の分析値のみの情報で、基準適合性の判断を行うには不十分である。この点について、低脂質加工食品の実態調査を行い、違反の蓋然性が疑われる食品（前記の漬け物）を検知し、その判断を求められる事案を経験することで、最終製品を構成する食品から、原材料ごとに分別し原材料単位で分析を行う技能の必要性を認識した。そこで原材料に分別可能な精度管理試験用試料を新たに開発した。すなわち、農薬を添加した精度管理試験用試料は、原材料への分別が可能な試料を前提として、①原材料への分別が可能であること、②特定の原材料に農薬が局在化していること、③原材料の分別が短時間に容易に行われること、④分別過程で原材料の形状が安定していること、⑤原材料間で農薬の移行が微量であること、⑥原材料ごとの加工係数（加工による重量変化率）を明示できる、以上六項目を重視して模擬加工食品を開発した。これらの条件を兼ね備えた模擬加工食品として、精度管理用試料（ポークビーンズ）を確立した。当該試料は、大豆とトマトピューレ及びハムから成り、これを使用することにより加工食品特有の分別工程等の課題に焦点を当てた精度管理試験を実施できることを示した。

(7) 今後の展望

本分析法は、国で開発されている加工食品

中の残留農薬一斉分析法よりも簡便であることから、中国製冷凍餃子事件に類する健康危機事案から流通食品のモニタリング調査まで広く適用できることが期待される。加えて加工食品中の残留農薬分析結果に基づいて、食品衛生法の適用を検討する場合、原料ごと分別分析が必要であるとの課題を示した。今後、この分別工程を含めた分析法の精度管理が加工食品中の残留農薬検査に不可欠と考えられることから、本研究で考案した新たな精度管理試料がひとつの基本モデルとなることが期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計4件)

- ① 福井直樹、高取 聡、北川陽子、起橋雅造、小阪田正和、中辻直人、中山裕紀子、柿本 葉、尾花裕孝、LC-MS/MS を用いた迅速で簡便な飲料中の残留農薬一斉分析法の実用化に向けての検討、食品衛生学雑誌、査読有、印刷中
- ② 起橋雅造、小阪田正和、内田耕太郎、永吉晴奈、山口貴弘、柿本健作、中山裕紀子、尾花裕孝、加工食品試料を用いた外部精度管理試料調製の検討、食品衛生学雑誌、査読有、51、2010、253-257
- ③ 北川陽子、起橋雅造、高取 聡、岡本葉、福井直樹、村田弘、住本建夫、尾花裕孝、GC/MS を用いた加工食品中の残留農薬一斉分析法の検討、食品衛生学雑誌、査読有、50、2009、198-207
- ④ 北川陽子、起橋雅造、高取 聡、岡本葉、福井直樹、村田弘、住本建夫、尾花裕孝、GC-MS/MS を用いた加工食品中の残留農薬一斉分析法の検討、食品衛生学雑誌、査読有、50、2009、243-252

[学会発表] (計6件)

- ① 福井直樹、小阪田正和、高取 聡、北川陽子、柿本葉、中辻直人、中山裕紀子、起橋雅浩、尾花裕孝、原材料に分別可能な加工食品試料を用いた農薬分析技能試験、第102回日本食品衛生学会学術講演会、2011、秋田
- ② 起橋雅浩、中山裕紀子、内田耕太郎、永吉晴奈、山口貴弘、柿本健作、尾花裕孝、冷凍餃子を試料とした加工食品中の農薬分析における技能試験、第102回日本食品衛生学会学術講演会、2011、秋田
- ③ 福井直樹、高取 聡、北川陽子、起橋雅浩、中辻直人、小阪田正和、柿本幸子、尾花裕孝、LC/MS/MSを用いた飲料中の残留農薬一斉分析法の検討、第47回全国衛生化学技術協議会年会、2010、兵庫
- ④ 北川陽子、起橋雅浩、高取 聡、福井直樹、中辻直人、小阪田正和、柿本幸子、尾花裕孝、GC/MS/MSを用いた加工食品中の残留農薬一斉分析法の検討（農産物を主原料とした可能食品を中心に）、第47回全国衛生化学技術協議会年会、2010、兵庫
- ⑤ 福井直樹、高取 聡、北川陽子、柿本幸子、柿本葉、村田弘、起橋雅浩、尾花裕孝、農産物を主原料とした加工食品の残留農薬実態調査、第46回全国衛生化学技術協議会年会、2009、盛岡
- ⑥ 起橋雅浩、小阪田正和、内田耕太郎、永吉晴奈、山口貴弘、柿本健作、尾花裕孝、加工食品試料を用いた外部精度管理試料調製の検討、第46回全国衛生化学技術協議会年会、2009、盛岡

〔図書〕（計1件）

- ① 高取 聡、起橋雅浩、北川陽子、福井直樹、柿本 葉、尾花裕孝、Rapid and easy multiresidue method for determination of pesticide residues in foods using

gas or liquid chromatography-tandem mass spectrometry, Pesticides-Strategies for Pesticides Analysis、INTEC、2011、197-214

〔その他〕メールマガジン（大阪府立公衆衛生研究所のホームページに掲載）：

- ① 加工食品を対象とした残留農薬一斉分析法の開発と実態調査、大阪府立公衆衛生研究所メールマガジン かわら版@iph 第89号 2011年1月31日発行
<http://www.iph.pref.osaka.jp/merumaga/back/89-2.html>
- ② 加工食品を対象とした残留農薬一斉分析法の開発、大阪府立公衆衛生研究所メールマガジン かわら版@iph 第81号 2010年5月31日発行
<http://www.iph.pref.osaka.jp/merumaga/back/81-1.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高取 聡 (TAKATORI SATOSHI)
大阪府立公衆衛生研究所・衛生化学部・主任研究員
研究者番号：90311480

(2) 研究分担者

起橋 雅浩 (OKIHASHI MASAHIRO)
大阪府立公衆衛生研究所・衛生化学部・主任研究員
研究者番号：60250312

研究分担者
北川 陽子 (KITAGAWA YOKO)
大阪府立公衆衛生研究所・衛生化学部・主任研究員
研究者番号：20280836

福井 直樹 (FUKUI NAOKI)
大阪府立公衆衛生研究所・衛生化学部・主任研究員
研究者番号：90516717