

食品中残留農薬分析の概要 ～知っておきたいいくつかのこと～

Some focus points for pesticide residue analysis in food

永山 敏廣 Nagayama Toshihiro (Specially Appointed Professor)

明治薬科大学 特任教授
Meiji Pharmaceutical University

キーワード … 残留農薬分析、実態調査、摂取量調査

01 はじめに

食品は多種多様な成分の集合体であり、分析に際し、夾雑物となつて妨害する。食品中残留農薬分析では、微量の農薬を膨大な量の妨害成分の中から検出しなければならない。一方、食品に残留する農薬は多種多様で、水溶性物質も脂溶性物質も、酸性物質も塩基性物質もあるなど様々な性質を有しており、ひとつの操作ですべての農薬に適切に対応することは極めて困難である。

残留農薬分析は、多くの場合、不特定の農薬を対象とする。分析途中で分解する不安定な農薬もある。一方、対象食品は多岐にわたり、夾雑物の種類も様々である。これらは食品中の残留農薬を分析するときの困難さの原因のひとつとなっている。他方、近年の分析機器の発達はめざましく、自動化が進み、優れた技術等をもたなくても、また、食品分析にGLP(Good Laboratory Practice:優良試験所規範)が導入されたことで、特に多くの基本的な知識を有しなくても、マニュアル通りに操作することで、ほとんど誤りのない結果が導き出せる。

しかし、測定対象とする農薬と極めて類似した挙動を示す夾雑物が多い。さらに、同様の性質を有する農薬も少なからずある。確実に捉えて正しく定量するためには、誤認することのないように十分な留意を払わなければならない。得られた結果値の正誤判断、評価には、確かな技術と知識なくしては正しく取り組むことは難しい。

02 残留農薬分析の目的と分析要件

食品中の残留農薬分析の目的には、実態調査、摂取量調査、農薬施用時の作物残留性試験や市販食品の法適合判断試験などがあり、それぞれに定量限界、正確さなどに適切な要件がある。

我が国では、地方公共団体等により市販食品中の残留農薬実

態調査が広く行われており、これら結果をまとめ、厚生労働省が平成6年度以降の国産品、輸入品における残留状況を公表している¹⁾。実態調査では、残留状況を正しく把握するため、より低レベルまでの正確な分析値が求められる。

摂取量調査は、地方公共団体等の独自調査の他、厚生労働省が調査を進め、平成3年度以降の状況を公表している²⁾。調理加工後の試料を分析することが多く、加熱に伴う成分変化や濃縮等により分析が難しいことも多い。正しく摂取状況を把握するためには、実態調査と同様に、より低レベルまでの正確な分析値が求められる。実際に、近年の公表結果を見ると、定量限界が調査初期に比較してより低レベルとなっており、対ADI(Acceptable Daily Intake:許容一日摂取量)比の割合が小さいところまで提示されるようになった。

農薬取締法に基づく作物残留性試験では、登録にかかわる農薬の残留濃度・減衰速度等を評価するため、対象農薬原体のみならず、その代謝生成物の正確な分析値が求められる。測定部位は、作物及び家畜等の生体中で農薬が移動する部位であれば、非可食部も分析対象となる。これらの結果を参照して食品衛生法に基づく残留基準が規定される。

食品衛生法第11条に基づく基準には、不検出基準、本基準、暫定基準及び一律基準などが設定されており、不検出基準における検出限界値は0.00005~0.1ppm、残留基準値は0.0001ppm未満~100ppm以上の範囲にわたる³⁾。また、100ppm以上の基準値が設定されている農薬であっても、基準が設定されていない食品には一律基準0.01ppmが適用される。法適合は、得られた分析値とこれら検出限界値や基準値との比較により判断されるため、法適合判断試験では、基準値付近における正確な分析値が求められる。

03 分析法の概要

「試料調製(サンプリング)」、「抽出」、「精製」、「測定(定性・定量)」、「確認」、「結果の確定」から構成される。

試料調製は、通常「対象全体を代表する検体を採取するように努めること」とされる。このとき、分析部位は目的により決定される。実態調査及び摂取量調査では調査対象部位、作物残留試験では当該作物の可食部及び施用農薬の移行先など⁴⁾、法適合判断試験では法で規定された部位⁵⁾である。なお、この法にかかわる試験では、最近、りんごの分析部位が花落ちや芯を含む全果に改正された(平成30年2月28日厚生労働省告示第38号)。また、カカオ豆が外皮を除去したものに(平成30年9月21日薬生食基発0921第3号)、みかんが果実全体、びわ、もも、すいか、メロン類果実及びびまぐわうりが果梗を除く全果に(2018年12月26日厚生労働省 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会議事録資料10「農産物の検体部位および基準値適用部位の見直しについて」、令和元年9月20日薬生食基発0920第6号「残留農薬等の分析に係る検体の留意事項について」)改正された。国際基準に照らし変更されるもので、基準見直し時に順次改正されるため、しばらくは外皮を含むまたは果皮等を除去したものと全果等の両方の部位が検体として混在する。

抽出は、対象物質を十分溶解し、対象食品部位全体から取り出す手法を用いることが求められる。乾いて堅い試料の場合は、水を加えて膨潤させ、抽出溶媒が中まで浸透しやすくする。固形油脂の場合は、内部からも抽出するために、当該油脂を溶解することが望まれている。また、農薬の種類によっては、揮散、酸化、酵素分解や代謝分解等を受けやすいものもあり、安定剤の添加や速やかな分析操作が必要な場合がある。揮散性が高いときなどは、ディーン・スターク蒸留装置や水蒸気蒸留装置、密閉型抽出装置が利用される。他に、夾雑物の抽出を抑える透析膜法や抽出率を向上させる高速溶媒抽出(ASE:Accelerated Solvent Extraction)法を利用する例も見られる。なお、抽出方法を変更することは、試料のバラツキの影響、抽出効率、測定対象物質の安定性等に影響を及ぼす可能性がある。試料量、抽出溶媒の種類と量、抽出操作等の変更は、分析操作中の損失を確認する添加回収試験では評価できないため、十分な注意が必要である。

精製は、分析対象以外の物質を極力取り除くことが求められる。最近広く用いられる多成分一斉分析では、多様な性質の物質を一括して対象とするため、夾雑物類似の性質を有する物質も多くあり、粗い精製となりやすい。取り残した夾雑成分は、測定時に偽検出による誤認、マトリックス効果等による定量への影響を生じさせることも多い。

測定は、確実な定性と高精度な定量が求められる。確実に目的物質であることを確認し、その物質のみを正しく定量する。特に十二分な精製が成されないときには注意する。定量性を向上させるため、内標準物質やサロゲートを利用する方法、カラムスイッチング、パーティアントラップやポストカラムの各システムを利用して測定する方法もある。かつての測定機器として、ガスク

ロマトグラフでは電子捕獲型検出器(ECD:Electron Capture Detector)、炎光光度型検出器(FPD:Flame Photometric Detector)や高感度窒素・リン検出器(NPD:Nitrogen Phosphorus Detector)、アルカリ熱イオン化検出器(FTD:Flame Thermionic Detector)など、高速液体クロマトグラフでは紫外吸収検出器(UV:Ultra Violet Detector)や蛍光検出器(FL:Fluorescence detector)などの選択性検出器を用いて測定されたが、近年はタンデム型質量分析計(MS/MS:tandem Mass Spectrometer)の利用が多い。

確認、結果の確定は、間違いなく測定対象物質を捉え、当該物質のみを正しく定量したことを確認し、結果とする。特に、自動分析により判断する際は、クロマトグラムの確認や、検量線の形状や大きさ、直線性などに異常がないか留意する。

04 分析法の現状

食品中の残留農薬分析手法は、分析目的により若干の違いが見られる。

新規に開発された農薬の農薬取締法に基づく作物残留性試験では、当該農薬に適するようそれぞれ個別に検討、開発された分析法が用いられる。この分析手法は、その農薬の開発に即した方法であり、実態調査等にそのまま用いられることは少ない。一般的に詳細な手法は公開されていないが、概要が農薬抄録⁶⁾及び農動薬部会報告⁷⁾に載せられている。

残留実態や基準遵守を確認するために現在広く用いられる分析法は、厚生労働省から公示された試験法が多く、告示試験法及び通知試験法がある。

告示試験法は、官報に告示された試験法で、食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生労働省告示第370号)⁸⁾第1食品A食品一般の成分規格(以下「食品規格」という。)の5項で不検出とされる農薬等、及び6、7項に示される本基準、暫定基準で不検出の基準を有する農薬等の分析に用いる試験法として、対農薬6通り、対動物医薬品15通りの計21通り規定されている⁹⁾。いずれも農薬等ごとの個別試験法であり、それぞれに検出限界¹⁰⁾が提示され、これら値以上を検出したときは、食品衛生法違反となる。ここに示される検出限界は、「適切な正確さを持って定量できることが確認された分析対象化合物の最低量又は濃度」と定義され、定量性のない値である分析化学上の意味とは異なる行政的な用語として用いられている。なお、検出限界以上の測定値が得られ分析値を求める際には、検出限界より1桁多く求め、その多く求めた1桁について四捨五入する。本試験法には「同等以上の性能を有すると認められる試験法」も規定され、その妥当性は「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(平成19年11月15日付け食安発第1115001号・平成22年12月24日 食安発1224第1号で一部改正)(以下「妥当性評価ガイドライン」という。)により評価する。

通知試験法は、食品規格の6、7及び9項に示されるいわゆる本基準、暫定基準等が設けられている農薬等の分析に用いる試験

法として示されている。本試験法は、「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」(平成17年1月24日食安発第0124001号「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」別添)¹¹⁾として示されている。2020年4月1日現在、農産物を対象とした4通り、畜水産物を対象とした7通りの計11通りのGC-MSまたはLC-MS/MS等を用いた一斉試験法、農産物にかかわる232通り、畜水産物にかかわる75通り、畜産物にかかわる18通り、水産物にかかわる3通り、そしてはちみつにかかわる1通りの計329通りの選択性検出器を装着したGC、LCまたはLC-MS/MS等を用いた個別試験法が提示されている。個別試験法は、有機リン系農薬、有機塩素系農薬やピレスロイド系農薬などの類似の性質を有するグループをまとめて分析する方法、分解しやすい農薬、揮散しやすい農薬、代謝物を測定する農薬等が対象となっている。なお、本試験法の5.分析上の留意事項の(1)に、ここに規定する試験法以外の方法による場合は、「同等又はそれ以上の性能を有すると認められる試験法」で実施するとされ、その妥当性は、告示試験法と同様「妥当性評価ガイドライン」により評価する。

近年発出される公示試験法は、従前に比較して記載が簡略化されており、一般的な器具や装置などは省略され、ろ過助剤の使用も必須の場合を除き特に記載されていないなど、実施に際し、分析機関の実情に合わせて措置できるように配慮されている(ただし、ポジティブリスト化以前に発出された試験法は比較的詳細に記載されている。)。試験法の性能に影響を及ぼさない範囲で、記載のない操作(例:抽出操作の吸引過時にケイソウ土を使用するなど)も実施できる。試験法には、分析手法の他、留意事項が示され、当該試験法に特化した注意点が示されている。全体にかかわる注意点については、総則や事務連絡¹²⁾としてまとめて示されている。この中で、「分析値は、基準値より1けた多く求め、その多く求めた1けたについて四捨五入する。」、「カラムへの負荷、注入は数回に分けて行うことが望ましい。特に、流出、溶出溶媒の注入は、少量ずつ数回注入してカラム器壁等を洗浄する。また、カラムからの流出、溶出は、一定の速度で行うことが望ましい。」、「検量線作成時に原点は含めない。また、定量は、作成した検量線の濃度範囲内で行う。」ことなどが示されている。また、公示試験法等、官公庁から発出される文書には商品名等は使用できない。そのため、精製カラムなどには一般名が用いられており、実際に何を使用すべきか判然としないことが多い。そこで、これら試験法開発時に用いた具体的なカラムの種類を、別途「事務連絡」で発出している¹³⁾。

一方、新たな試験法の開発等に際して参考として、公示分析法が未整備の農薬等の残留実態把握の試験に用いられた試験法が示されている¹⁴⁾。2020年4月1日現在、農産物を対象に46通り、畜産物を対象に11通りの計57通りの個別試験法である。

他に、成書や学術誌等に記載の方法が知られる。近年は、公示試験法が逐次改訂されることもあって新たな成書はほとんど刊行されていないが、最近刊の一つとして、衛生試験法・注解2020¹⁵⁾がある。農薬については、一斉分析法としてガスクロマト

グラフィー/質量分析法及び高速液体クロマトグラフィー/質量分析法、その他グループ・個別試験法として有機塩素系農薬、有機リン系農薬、カルバメート系農薬、ジチオカルバメート系農薬、ピレスロイド系農薬、臭化メチル及びクロルピクリンの各分析法が、また、ELISAによるスクリーニング試験も示されている。動物用医薬品については、合成抗菌剤のHPLCによる分析法の他、抗生物質のバイオアッセイによるスクリーニング試験も示されている。ELISAなどの比較的新しい手法やバイオアッセイなどの公示されていない実務に役立つ試験法と共に、それぞれの試験法に関連した詳細な解説が記されている。

05 基準遵守判断と妥当性評価

基準遵守判断に用いる試験法は、現在、妥当性評価ガイドラインにより選択性、真度、精度等の妥当性が評価され、評価基準を満たす試験法を用いることが規定されている。

公示試験法の開発における検討結果をまとめた「(参考)発出した試験法の検討結果」、「(参考)農薬等の一斉試験法の妥当性評価試験結果」が、それぞれの試験法を操作する際の参考として、2020年4月1日現在、告示試験法8通り、通知法のうち、対農産物28通り、対農産物・畜水産物8通り、対畜水産物38通り、対畜水産・はちみつ1通り、対畜産物12通り、対水産物1通りの計97通りの告示・通知個別試験法について提示されている¹⁶⁾。

通知試験法のうち、近年広く用いられている一斉試験法については、妥当性評価ガイドラインに準じて評価した結果が公表されている¹⁶⁾。2020年4月1日現在、GC/MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)、LC-MSによる農薬等の一斉試験法I(農産物)、LC/MSによる農薬等の一斉試験法II(農産物)(平成31年1月)、LC-MSによる農薬等の一斉試験法I(茶:溶媒抽出法)、LC/MSによる農薬等の一斉試験法II(畜水産物)及びLC/MSによる農薬等の一斉試験法III(畜水産物)の妥当性評価試験結果が示されている。

06 おわりに

結果報告の前に、目的成分を正しく捉える分析法を用いているか、定量・検出限界は適切に確保されているか、操作中の損失はなかったか、分析中にコンタミネーションはなかったか、誤認はないか、当該分析に関する情報は記録・保管されているか、などを確認したい。

食品中の残留農薬分析手法は、比較的難しい手法の一つである。近年の科学技術の向上に伴い分析の自動化が進み、分析担当者の基礎的な知識、技術が見えにくくなってきている。正しい結果は、経験に裏打ちされた技術と共に、広い知識を礎にすることで導かれる。本稿がその一助となれば幸いに思う。

参考文献

- 1) 厚生労働省, 令和元年 12 月 25 日「平成 28 年度 食品中の残留農薬等検査結果について」 https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_08633.html (参照 2020-4-15) .
- 2) 厚生労働省, 「平成 29 年度 食品中の残留農薬等の一日摂取量調査結果」 <https://www.mhlw.go.jp/content/000500686.pdf> (参照 2020-4-15) .
- 3) 食品・食品添加物等規格基準 (抄) 令和 2 年 1 月 1 日現在 (公益社団法人 日本食品衛生学会, 東京, 2020) pp.28-182.
- 4) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC), 「農薬の登録申請において提出すべき資料について」 http://www.acis.famic.go.jp/shinsei/6278/6278_2nd.pdf (参照 2020-4-15) .
- 5) 厚生労働省, 「食品、添加物等の規格基準」第 1 食品の部 A 食品一般の成分規格の 5 の (2)」 <https://www.mhlw.go.jp/content/000358849.pdf> (参照 2020-4-15) .
- 6) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC), 「農薬抄録」 <http://www.acis.famic.go.jp/syouroku/index.html> (参照 2020-4-15) .
- 7) 厚生労働省, 「薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会報告」 https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/zanryu/bukaihoukoku.html (参照 2020-4-15) .
- 8) 厚生労働省, 「食品、添加物等の規格基準」 https://www.mhlw.go.jp/web/t_doc?dataId=78334000&dataType=0 (参照 2020-4-15) .
- 9) 厚生労働省, 「食品、添加物等の規格基準 (昭和 34 年厚生省告示第 370 号) -抄-」 https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/zanryu/591228-1.html (参照 2020-4-15) .
- 10) 厚生労働省, 平成 29 年 7 月 19 日生食発 0719 第 2 号「食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について」別紙 2 <https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzenbu/0000190493.pdf> (参照 2020-4-15) .
- 11) 厚生労働省, 「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」 https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/zanryu/zanryu3/siken.html (参照 2020-4-15) .
- 12) 厚生労働省, 平成 30 年 9 月 11 日事務連絡「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係る分析上の留意事項の一部改正について」(別添) <https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/000352251.pdf> (参照 2020-4-15) .
- 13) 厚生労働省, 平成 30 年 9 月 11 日事務連絡「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係る分析上の留意事項の一部改正について」(別紙) <https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/000352251.pdf> (参照 2020-4-15) .
- 14) 厚生労働省, 「(参考) 農産物または畜水産物おける残留試験で用いた試験法」 https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/zanryu/zanryu3/siken.html (参照 2020-4-15) .
- 15) 公益社団法人日本薬学会編, 衛生試験法・注解 2020 (金原出版, 東京, 2020) pp.449-504.
- 16) 厚生労働省, 「(参考) 発出した試験法の検討結果」, 「(参考) 農薬等の一斉試験法の妥当性評価試験結果」 https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/zanryu/zanryu3/siken.html (参照 2020-4-15) .