

緊急時における冷凍食品中有機リン系農薬の迅速検出法

増淵 珠子^a, 大塚 健治^a, 富澤 早苗^a, 八巻 ゆみこ^a, 相澤 正樹^a,
岩越 景子^b, 中川 由紀子^a, 増田 諒子^c, 須藤 将太^a, 小鍛冶 好恵^a, 新藤 哲也^a

冷凍食品へのマラチオン混入事件発生時に検査対応した検出法に関して、マラチオン以外の有機リン系農薬についても適用できるか検討した。冷凍食品8品目を検査試料とし、有機リン系農薬12種について、1濃度3併行の添加回収試験を行った。その結果、選択性、回収率及び併行精度は、すべての試料及び農薬において評価基準を満たし、本検出法は高濃度に含まれる有機リン系農薬の有無を判断できると考えられた。

キーワード：有機リン系農薬，冷凍食品，迅速検出法

はじめに

平成20年1月、中国産冷凍餃子を食べた10名が、嘔吐縮瞳等の有機リン中毒症状を呈し、餃子から高濃度のメタミドホスが検出される事件が発生した¹⁾。事件を受けて、食品の規格基準への適合性を判定する試験法とは別に、加工食品中に高濃度に含まれる農薬を迅速に判断できる検出法^{2,3)}が厚生労働省から示されている。

また、平成25年12月には国内産冷凍食品から高濃度のマラチオンが検出される事件が発生した⁴⁾。当センターにおいても保健所を通じて都民から届出のあった冷凍食品の検査を実施し、当初は厚生労働省の検出法に準拠した方法で検査を開始した。しかし、大部分がコロッケやピザ等油脂を多く含む食品であったため前処理過程においてアセトニトリル・ヘキサン分配による脱脂操作を必要とした。しかも検査依頼は50件を超え、検査に時間を要し緊急検査に支障をきたした。そのため、さらに迅速、簡便な検出法が必要となり、当センターで開発した「農産物中における残留農薬迅速試験法」⁵⁾を改良した方法（以下、本迅速検出法と称す）でマラチオンの検査を実施した⁶⁾。

本迅速検出法は試料からマラチオンをアセトニトリルで抽出し、脱水、緩衝及び塩析作用を有する塩類を添加した後、固相3層カラムによる精製を行うものであり、マラチオンに近い物性を示す有機リン系農薬にも適用可能な検出法であると考えられた。そこで、今回マラチオン以外の有機リン系農薬12種について本迅速検出法の適用を検討したので、その結果を報告する。

実験方法

1. 試料

冷凍食品8種

コロッケ、いんげん、グラタン、焼きおにぎり、ぎょうざ、ピザ、ドリア及びほうれんそう

2. 調査対象農薬

有機リン系農薬12種

クロルピリホス、クロルピリホスメチル、ダイアジノン、ジクロロボス、ジメトエート、エチオン、イソキサチオン、メチダチオン、フェントエート、ホサロン、ピリミホスメチル及びトリアゾホス (Fig. 1)

3. 試薬

標準品は和光純薬工業（株）及びDr. Ehrenstorfer GmbH社製の農薬標準品を使用した。

アセトニトリル、アセトン、トルエン、塩化ナトリウム及び無水硫酸マグネシウムは、和光純薬工業（株）製の残留農薬・PCB試験用を使用した。クエン酸水素2ナトリウム1.5水和物、クエン酸3ナトリウム2水和物は和光純薬工業（株）製の特級を使用した。

固相カラムは、ジーエルサイエンス（株）製のオクタデシルシリル化シリカゲル（C18）、グラファイトカーボン（GC）及びエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル（PSA）をそれぞれ60mg、30mg及び60mgの順に積層したものをを使用した。

4. 装置

ガスクロマトグラフ

（株）島津製作所製GC-2010（検出器：FPD）

5. 測定条件

カラム：DB-35MS（30 m×0.25 mm，膜厚0.25 μm）

カラム温度：80°C（2 min）→40°C/min→220°C→8°C/min→250°C→40°C/min→300°C（3.5 min）

注入口温度：250°C 検出器温度：300°C

注入量：1 μL

^a 東京都健康安全研究センター食品化学部残留物質研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター食品化学部食品添加物研究科

^c 東京都健康安全研究センター広域監視部薬事監視指導課

6. 試料溶液の調製

試料溶液の調製方法をFig. 2に示した.

7. 検量線の作成

各農薬標準品をアセトンに溶解し0.05, 0.1, 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に調製し, ピーク面積法で検量線を作成した.

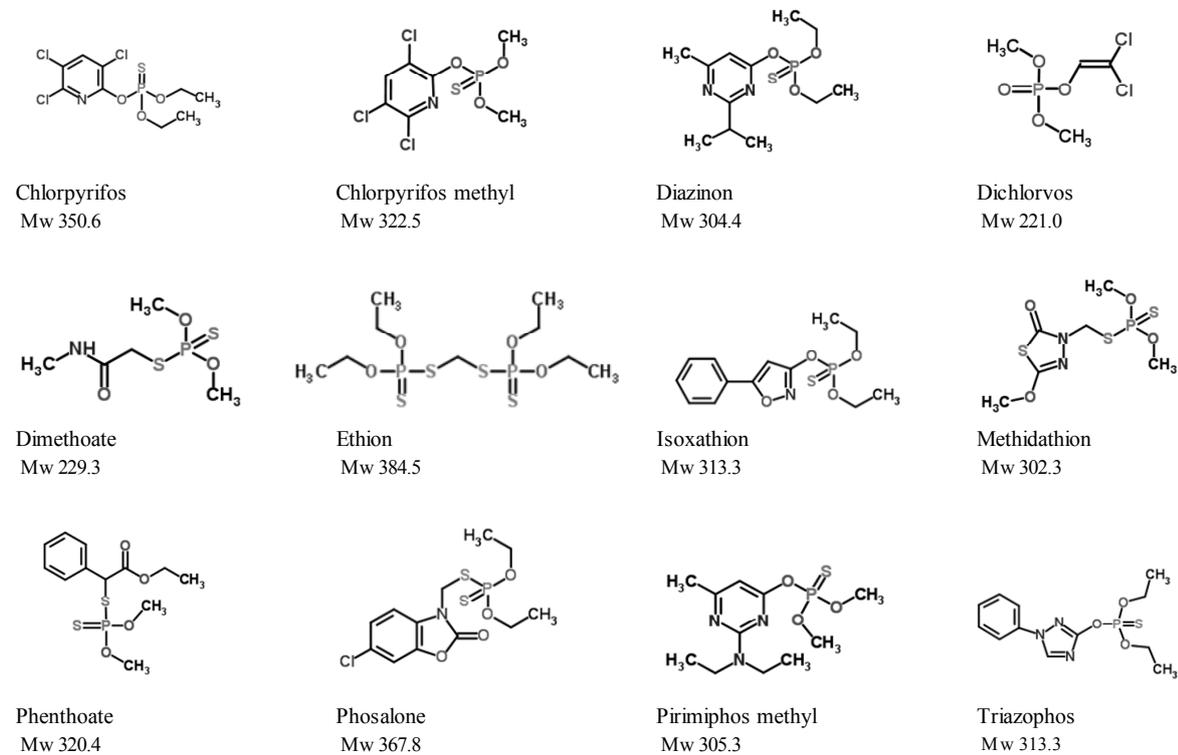


Fig. 1. Chemical structure of pesticides

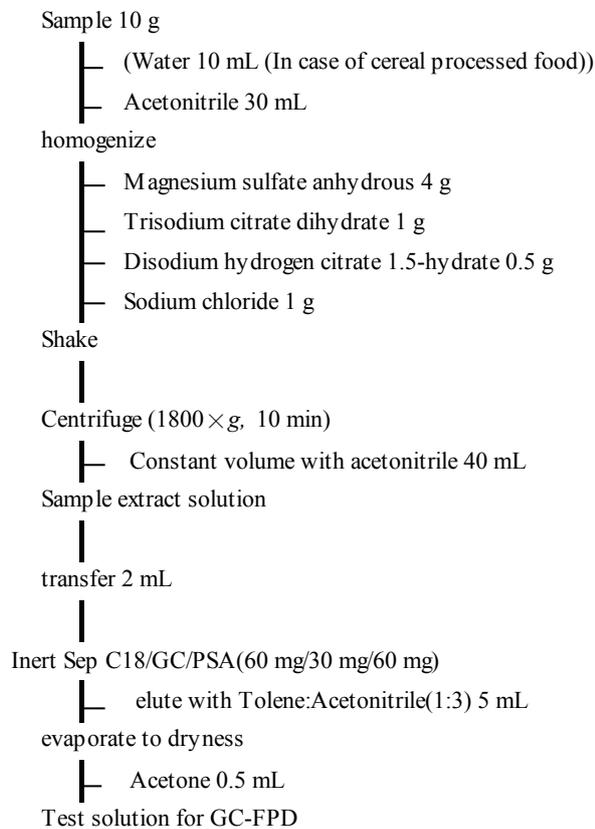


Fig. 2. Sample preparation method for Multi-residue determination

8. 添加回収試験

調査対象農薬が検出されないことを確認した冷凍食品に試料中濃度で0.1 mg/kgとなるよう有機リン系農薬12種を添加した。30分放置後、本迅速検出法に従って操作し回収率と併行精度を求めた。ピザと焼きおにぎりは、アセトニトリル添加前に水10 gを加えて30分放置した。

結果及び考察

1. 操作性及び検査時間

ピザや焼きおにぎり等穀類を主とする食品は、直接アセトニトリルを添加すると試料がガム状になり、ホモジナイザーの刃が回転できず抽出できなかつた。そこで水10 gを加え30分放置後にアセトニトリルを添加しホモジナイズしたところ十分に粉碎、抽出することができた。

厚生労働省検出法において、油脂を含む食品は酢酸エチルで抽出後、アセトニトリル・ヘキサン分配による脱脂操作を行うため、前処理に時間を要する。一方、本迅速検出法ではアセトニトリル抽出と固相カラムによる脱脂精製を行うことから、作業は大きく簡略化され、有機溶媒使用量も削減された。

さらに、12種の農薬を良好に分離できるようGC-FPDの昇温条件を検討したところ、15分で測定することができた。

その結果、抽出からGC-FPD測定終了までの検査時間は、一検体あたり50分となり約1/2に短縮できた。

2. 性能評価の結果

1) 選択性

ブランク試料をGC-FPDで測定し、選択性を確認したところ、すべての食品において測定を妨害するようなピークは見られなかつた。ぎょうぎにおけるブランク試料のクロマトグラムをFig. 3に示した。

2) 回収率及び併行精度

評価濃度は、厚生労働省事務連絡で示されているとおり0.1 mg/kgと設定した。冷凍食品8種について3併行の添加回収試験を実施し、各農薬の回収率及び併行精度（相対標準偏差）を求めた。回収率の平均は58.1~114.0%、併行精度は0.2~14.6%であり、厚生労働省事務連絡で示されている目標値の回収率50~200%及び併行精度30%未満を達成した。ジクロロボスの回収率は、複数の食品において若干低いものがあつた。これはジクロロボスの揮発性が高いため抽出・精製時の濃縮乾固に起因すると考えられる。

ぎょうぎにおける添加回収試験のクロマトグラムをFig. 4に、各農薬の回収率及び併行精度をTable 1, Fig. 5に示した。

3) 評価濃度の確認

回収率の評価で得られた各農薬のピーク面積のS/N比を求めたところ、すべて10以上であり、測定する上で十

分な感度を有していた。

3. 緊急時の検査への応用

有機リン系農薬はコリンエステラーゼ阻害作用を有するため大量に摂取した場合、急性中毒症状を呈することがある。健康被害発生等緊急時には、有機リン系農薬を特異的に検出するためにGC-FPDを使用する本迅速検出法により直ちに検査を実施し、有機リン系農薬が高濃度に含まれるか否かが判定する。ピークが確認された場合は、さらにGC-MS及びLC-MS/MSで分析すれば検出された物質の同定確認が可能である。

ま と め

本迅速検出法が有機リン系農薬12種について緊急時の検出法として適用できるか検討した。その結果、厚生労働省事務連絡で示された評価基準をすべて満たし、本検出法は冷凍食品に高濃度に含まれる有機リン系農薬の有無を判断できると考えられた。今後、緊急時の有機リン系農薬検査に迅速かつ効率的に対応できると考えられた。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品安全部監視安全課報道発表：中国産冷凍餃子を原因とする薬物中毒事案について、平成20年7月30日
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡：食品中に残留する有機リン系農薬に係る試験法について、平成20年3月7日
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡：加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について、平成25年3月26日
- 4) 厚生労働省医薬食品安全部監視安全課報道発表：農薬（マラチオン）を検出した冷凍食品の自主回収について、平成25年12月29日
- 5) 岩越景子, 田村康宏, 大塚健治, 他：第106回日本食品衛生学会学術講演会要旨集, 107, 2013.
- 6) 田村康宏, 中川由紀子, 大塚健治, 他：東京健安研七 年 報, 65, 103-106, 2014

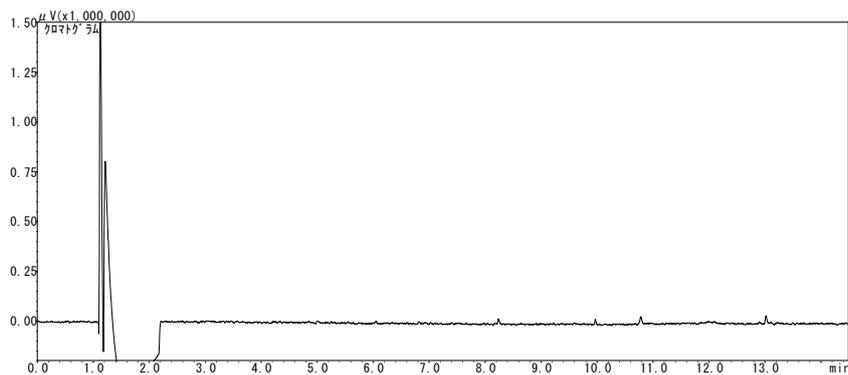
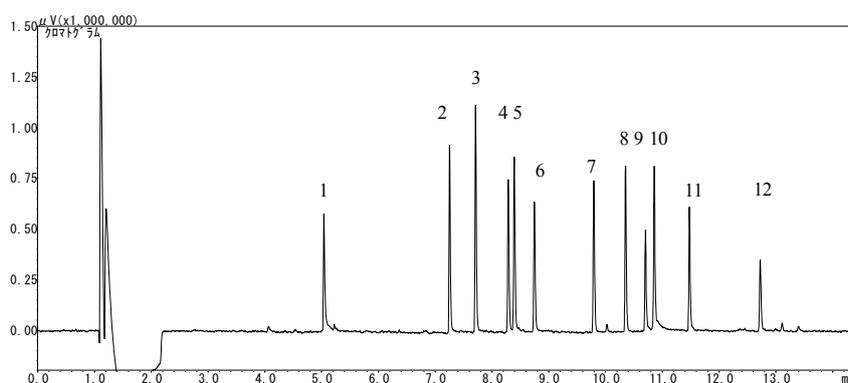


Fig. 3. Chromatogram of the blank sample in the gyoza



- 1. Dichlorvos
- 2. Diazinon
- 3. Dimethoate
- 4. Chlorpyrifos methyl
- 5. Pirimiphos methyl
- 6. Chlorpyrifos
- 7. Phenthoate
- 8. Methidathion
- 9. Isoxathion
- 10. Ethion
- 11. Triazophos
- 12. Phosalone

Fig. 4. Chromatogram of the recovery test in the gyoza (0.1 mg/kg, each addition)

Table 1. Results of validation study

	Croquette		Gratin		Grilled rice ball		Gyoza	
	Recovery(%)	RSD(%)	Recovery(%)	RSD(%)	Recovery(%)	RSD(%)	Recovery(%)	RSD(%)
Chlorpyrifos	87.9	1.9	97.3	0.4	95.4	4.1	100.9	2.3
Chlorpyrifos methyl	92.6	1.1	98.5	3.1	85.2	3.8	87.6	0.9
Diazinon	89.5	2.2	98.9	1.7	90.5	3.4	100.6	2.2
Dichlorvos	80.8	2.0	99.3	3.1	59.9	11.1	87.2	3.5
Dimethoate	99.1	3.7	106.0	0.9	98.3	3.8	99.0	0.8
Ethion	82.7	2.2	78.5	13.2	91.9	14.6	79.3	0.2
Isoxathion	105.9	2.4	103.6	5.4	106.0	2.9	102.7	2.2
Methidathion	99.4	2.3	105.3	1.8	105.0	3.8	97.6	1.1
Phenthoate	96.5	2.3	102.6	1.2	101.5	4.5	102.0	1.0
Phosalone	86.8	2.9	107.4	3.5	110.3	2.0	98.7	3.9
Pirimiphos methyl	90.7	1.5	97.3	1.8	88.0	2.2	89.0	2.5
Triazophos	88.0	2.2	96.9	5.4	89.8	3.6	86.9	2.7

	Pizza		Rice casserole		Spinach		String bean	
	Recovery(%)	RSD(%)	Recovery(%)	RSD(%)	Recovery(%)	RSD(%)	Recovery(%)	RSD(%)
Chlorpyrifos	94.0	4.3	88.6	2.0	82.8	2.7	102.1	2.9
Chlorpyrifos methyl	78.3	3.9	94.1	2.4	83.5	2.3	89.8	2.0
Diazinon	90.3	4.4	87.8	1.9	80.7	2.4	93.7	0.7
Dichlorvos	79.6	9.4	71.5	13.9	58.1	4.1	61.5	7.2
Dimethoate	89.7	2.5	100.7	1.8	91.3	3.1	118.5	0.9
Ethion	89.0	13.2	77.8	1.4	94.4	8.0	98.7	8.3
Isoxathion	105.3	2.9	114.0	0.5	100.2	3.1	111.4	2.4
Methidathion	92.7	3.6	101.4	2.1	88.2	3.9	112.8	3.1
Phenthoate	95.3	2.0	93.0	1.7	84.8	4.4	107.0	1.1
Phosalone	87.2	5.9	102.3	9.4	65.8	5.3	109.5	0.8
Pirimiphos methyl	82.9	3.8	90.1	2.6	82.9	3.0	89.6	1.2
Triazophos	83.6	0.8	90.4	2.1	91.0	4.0	99.7	1.8

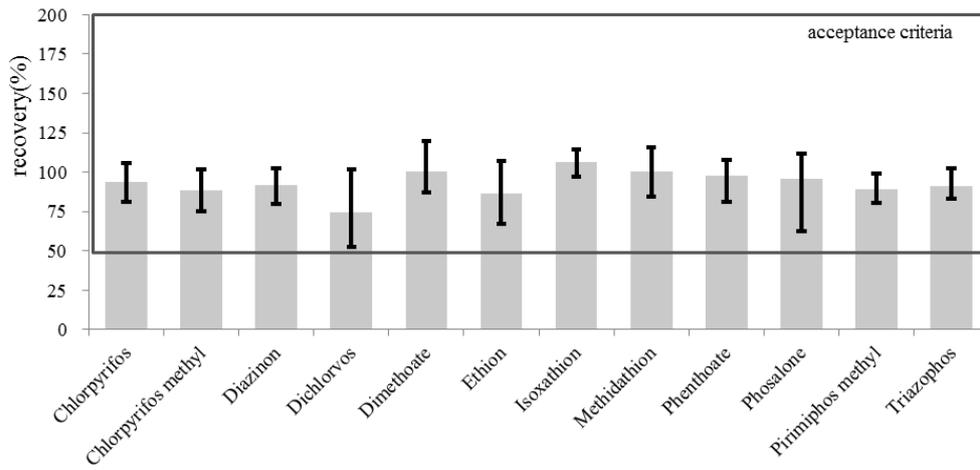


Fig. 5. Average of the recovery of each pesticide

The Quick Detection Method for Organic Phosphate Pesticides in Frozen Food at the Time of the Healthy Crisis Outbreak

Tamako MASUBUCHI^a, Kenji OTSUKA^a, Sanae TOMIZAWA^a, Yumiko YAMAKI^a,
Masaki AIZAWA^a, Keiko IWAKOSHI^a, Yukiko NAKAGAWA^a, Ryoko MASUDA^a,
Shota SUTO^a, Yoshie KOKAJI^a, and Tetsuya SHINDO^a

When malathion was accidentally contaminated with frozen food in 2013, we inspected them using an improved detection method known as the “rapid multi-residue analytical method of pesticides in agricultural products”. Here, we considered whether this detection method could also be used to detect 12 other types of organic phosphate pesticides. We carried out a performance evaluation for 8 kinds of frozen foods, and confirmed that this detection method matched all the criteria of selectivity, recovery, and repeatability. As a result, it was concluded that this detection method could be used to judge the presence of organic phosphate pesticides at a high concentration.

Keywords: frozen food, organic phosphate pesticides, rapid multi-residue analytical method of pesticides

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan