

畜産物中における有機塩素系農薬の迅速検査法の検討 (第2報)

食品薬品部

若林 勇輝 駒場 直行¹ 松下 和裕 齋藤 仁美 大山 周子 黒崎 かな子¹ 現保健福祉部保健福祉課

要旨

現在畜産物の脂肪中に残留する有機塩素系農薬の行政検査で使用している従来法について、検査に要する時間と使用溶媒量の削減を目的として、迅速検査法の検討を行い、セラミックホモジナイザー及びボルテックスミキサーを使用した攪拌による抽出工程と多孔性ケイソウ土カラム及びC18/PSA 固相抽出カラムを使用した精製工程を組み合わせた試験法を作成した。本法は、回収率において良好な結果が得られ、現行法と比較して、所要時間、使用溶媒量共に半分以下に削減することができた。本法について妥当性評価を行った結果、すべての試料、項目について、真度、精度共にガイドライン¹⁾の目標値を満たしたため、迅速検査法として確立した。

キーワード：有機塩素系農薬、畜産物、脂肪、多孔性ケイ素土カラム、C18/PSA、妥当性評価

1 はじめに

当センターでは豚、鶏、牛の主に脂肪について有機塩素系農薬の残留農薬検査を行っている。畜産物中の農薬検査においては、厚生労働省通知²⁾により、精製にゲル浸透クロマトグラフィー (以下GPC) を使用することとされているが、当センターにはGPCが無いため、液-液抽出による独自の方法で行っている (図1)。しかし、この方法は操作が煩雑であるため時間を要し、さらに試薬の使用量が多いという問題がある。

畜産物中の残留農薬検査においては近年、迅速分析法が多数報告されているが、畜産物中の有機塩素系農薬に関する迅速検査法の報告は少ない。そこで、第一報³⁾に引き続き、当該検査法の迅速簡易化を目的として検討を行い、良好な結果を得たので報告する。

2 実験方法

2.1 検討項目

塩素系農薬5項目

総BHC (α -BHC、 β -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC)、総DDT (p,p-DDD、p,p-DDE、o,p-DDT、p,p-DDT)、アルドリン及びディルドリン、エンドリン、ヘプタクロル (ヘプタクロル、エキソエポキシド体及びエンドエポキシド体) の14化合物

2.2 試料

鶏、豚、牛の脂身 (ミキサーにより細切したもの)

2.3 試薬等

(1) 標準品

Riedel-de Haën 社、AccuStandard, Inc 社、和光純薬工業株式会社製残留農薬分析用

(2) その他の試薬

関東化学株式会社及び和光純薬工業株式会社製残留農薬試験用

(3) 固相抽出カラム (C18/PSA)、多孔性ケイ素土カラム

ジーエルサイエンス株式会社

(4) セラミックホモジナイザー (以下セラミック)

アジレント・テクノロジー社製

(5) ポリトロンホモジナイザー (以下ポリトロン)

KINEMATICA AG 製

2.4 前処理方法

図2、図6に示すフローのとおり

2.5 標準液の調製方法

各農薬標準品をアセトンまたは *n*-ヘキサンに溶解し、100 μ g/mL 溶液としたものを適宜希釈混合し、混合標準液とした。2.4 前処理方法により得られた試験溶液の一定量を採り、乾固後、同量の混合標準液に再溶解したものを標準液とした。

2.6 添加回収試験

水浴上で融解した脂身に、検討項目の農薬を基準値相当量になるよう添加し、冷蔵にて固化したものを添加検体とした。添加検体 (n=2) と標準液のピーク面積の比較により回収率を求め、ばらつきの目安として回収率の差を求めた。回収率の目標値は70~120%、回収率の差の目標値は10%未満とした。

2.7 装置及び測定条件

装置：株式会社島津製作所製 GC2010

検出器：電子捕獲型検出器 (ECD)

カラム：アジレント・テクノロジー社製 DB-5

30m \times 0.25mm 膜厚0.25 μ m

カラム温度：50 $^{\circ}$ C (1min) \rightarrow 20 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 200 $^{\circ}$ C \rightarrow 5 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 230 $^{\circ}$ C (5min) \rightarrow 15 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 320 $^{\circ}$ C (22min)

キャリアガス：He

3 結果及び考察

3.1 抽出操作

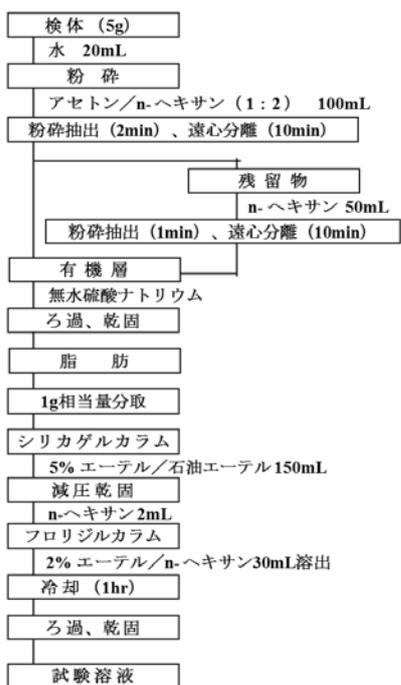


図1 現行法フロー

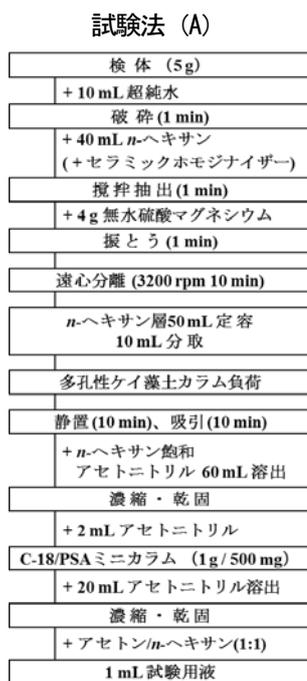
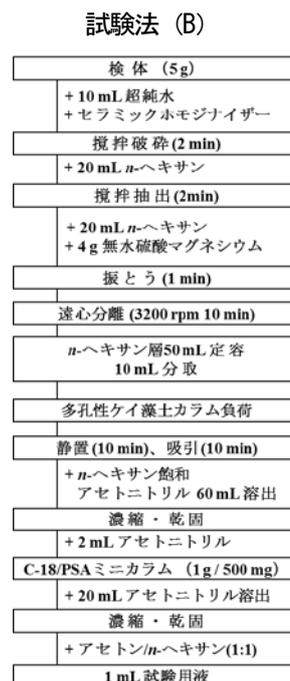


図2 前処理フロー



第1報では、超純水を加え、ポリトロンで破碎した後、抽出溶媒として *n*-ヘキサンを用い、ボルテックスミキサーで攪拌する方法であったが(試験法(A))³⁾、その後、検体には表1に示すように異なる性状のものがあり、脂身Aのような性状では回収率が低くなる場合があることがわかった。これは攪拌抽出における *n*-ヘキサン層への農薬の移行が不十分であることが原因と考えられた。そこで、攪拌抽出の効率を向上させる目的で *n*-ヘキサンによる抽出時にセラミックを導入したところ、回収率に改善がみられた(表2)。

一方、破碎操作時にポリトロンを用いると、①シャフトへの多量の付着物を洗い込む必要があること②高濃度検体によるコンタミネーションの恐れがあること等の問題があった。そこで、ポリトロンによる破碎に代えて、検体と共にセラミックを加えて破碎と抽出を連続して行う方法(試験法(B))を試みたところ、これらの問題が解消したことに加え、回収率もセラミックを加えた試験法(A)とほぼ同等の良好な結果であった(表2)。

以上の結果より、以降の検討には試験法(B)を用いることとした。

表2 試験法(A)及び(B)の回収率 (%)

	試験法 (A)		試験法 (B)
	なし	あり	あり
セラミック			
α-BHC	46.1	85.2	92.7
β-BHC	62.3	92.0	102.9
γ-BHC	63.0	94.6	91.1
δ-BHC	57.7	89.7	84.8
p,p'-DDD	61.8	87.1	81.8
p,p'-DDE	60.5	86.0	88.2
o,p'-DDT	61.3	84.8	83.8
p,p'-DDT	58.4	81.5	84.2
アルドリン	55.7	81.4	86.3
ディルドリン	64.5	86.1	85.9
エンドリン	67.5	100.2	83.8
ヘプタクロル	54.0	75.5	83.6
ヘプタクロル _{exo}	58.5	78.3	80.3
ヘプタクロル _{endo}	72.4	96.7	87.1
平均値	60.3	87.1	86.9

表1 脂身の性状(写真)と回収率 (%)

	A	B	C
脂身			
性状	粉状に近い	水気が多い	固体に近い
回収率	46~72%	84~115%	

3.2 精製操作

3.2.1 多孔性ケイ藻土カラム精製条件

第1報では、脂肪等夾雑物除去のため、多孔性ケイ藻土カラム（以下カラム）を使用することとしたが³⁾⁴⁾、一部回収率の差が大きい項目がみられた。カラム精製を行う上で、*n*-ヘキサン抽出液に含まれる成分がケイ藻土内へ浸透するための静置時間、カラム中に残存する *n*-ヘキサンを除去するための吸引時間及び溶出溶媒量を重要なファクターと考え、最適な条件の検討を行うこととした。静置時間では、吸引時間を10分、溶出溶媒量を60mLとし、0、5、10、15分で検討したところ、10分以上で良好な回収率及び回収率の差を示した（図3）。静置時間が短いと、試料液のケイ藻土への吸着が不十分となり、農薬の保持が不均一になることで、溶出に差が生じることが原因と考えられた。

吸引時間では、静置時間を10分、溶出溶媒量を60mLとし、0、5、10、15分で検討したところ、0、10、15分で良好な回収率を示し、5、10分で良好な回収率の差を示した（図4）。吸引時間は、短いと溶解した脂肪等の雑物が同時に溶出してしまい、長いと農薬に揮発等の影響が出るということが原因と考えられた。

溶出溶媒量では、静置、吸引時間共に10分とし、20、30、40、50、60、100mLを検討対象とした。回収率平均値、総DDT、ディルドリン及びビエンドリンは40mL以上、 α -BHC、アルドリン、ヘプタクロルは60mL以上で良好な回収率を示した（図5）。また、回収率の差は20mLから順に17.6、4.2、10.2、25.7、8.1、7.5%となり、60mL以上で良好な値を示した。

以上のことから、カラム精製の最適な条件は静置時間及び吸引時間が10分、溶出溶媒量60mLとした。

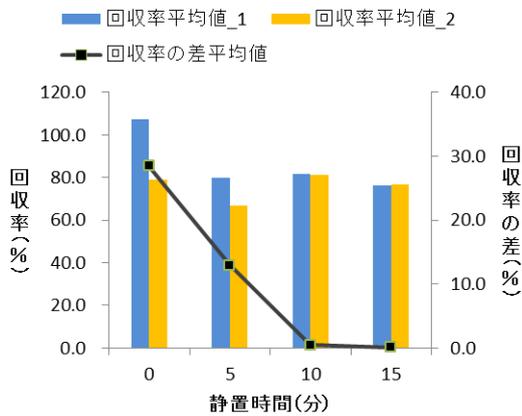


図3 静置時間結果

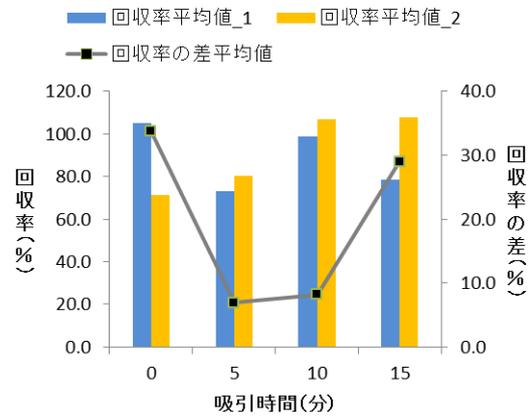


図4 吸引時間結果

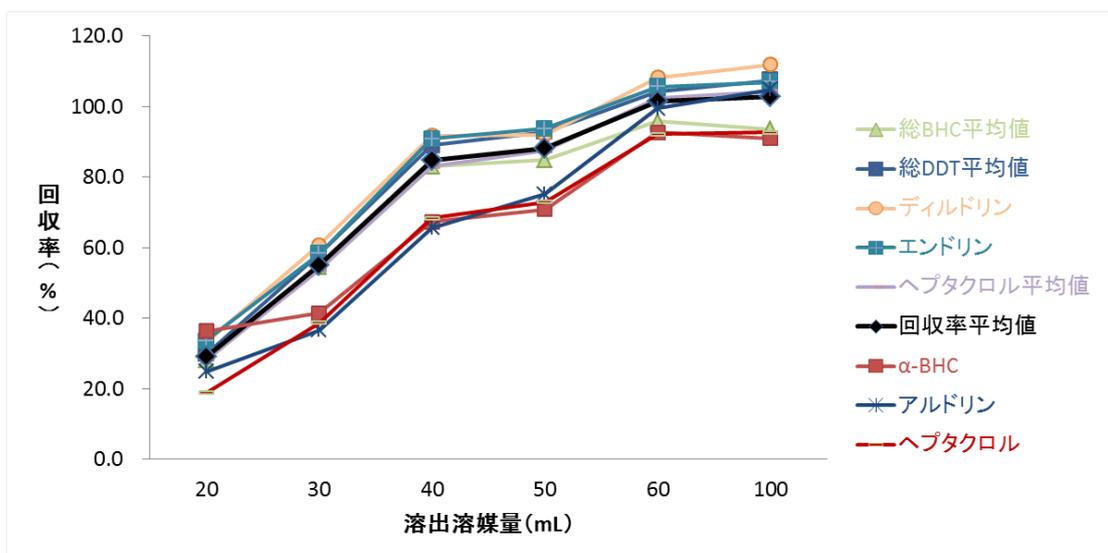


図5 溶出溶媒量結果

3.2.2 突沸防止

カラム精製後の減圧濃縮の際に、突沸が多くみられ、回収率の差の原因と考えられた。*n*-ヘキサン飽和アセトニトリルが溶出溶媒であるため、ケイ藻土に吸着した脂肪等夾雑物が再溶解し粘度が上がることや、それらが析出することで液面の面積が減少することが原因と考え、溶出溶媒をアセトニトリルに変更した。また、アセトニトリルが突沸しやすい溶媒であるため、1-プロパノールを加えたところ突沸をほぼ抑えることができた。

3.3 迅速検査法の確立及び妥当性評価

第1報及び今回の検討で最適の結果となった抽出及び精製条件を組み合わせたところ、回収率及び回収率の差共に良好な結果が得られた。また、現行法では、前処理に5検体あたり2~3日要するのに対し、本法では1日で処理が可能となり、大幅な迅速簡易化を図ることができた。さらに使用溶媒量は1検体あたり334mLから143mLと大幅に削減することができた。そこで、本法を畜産物における有機塩素系農薬の迅速検査法として確立した(図6)。

本法について牛、豚、鶏の脂身を試料とし、妥当性評価を行った。国のガイドライン¹⁾に従い、一日2併行で5日間実施し、真度、併行精度及び室内精度を算出したところ、すべての試料、すべての農薬について目標値を満たした(表3)。

4 まとめ

今回、畜産物の脂身における有機塩素系農薬の迅速検査法を確立した。抽出方法にセラミックを用いた攪拌による破碎及び*n*-ヘキサン抽出、精製方法に多孔性ケイ藻土カラム及びC18/PSAカラムを用いた精製を取り入れることで良好な回収率及び回収率の差を得ることができた。本法では従来法に比べ、処理時間及び溶媒量が大幅に削減された。

また、例年行政検査を実施している試料(牛、豚、鶏の脂身)の妥当性評価の結果、すべての項目について真度、精度共にガイドラインの示す目標値を満たしたことから、今後、現行法に代わり行政検査に適用することが可能となった。

本法の導入により、報告の迅速化、検体数の増加及び環境負荷の低減等が期待できる。

参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知、食安発1224第1号、平成22年12月24日
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知、食安発第0124001号、平成17年1月24日
- 3) 若林勇輝他、畜産物中における有機塩素系農薬の迅速検査法の検討(第1報)、栃木県保健環境センター年報、第21号、46-49、2016
- 4) 上野英二、多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィーの農薬残留分析への利用、日本農薬学会誌 35、74-78、2010

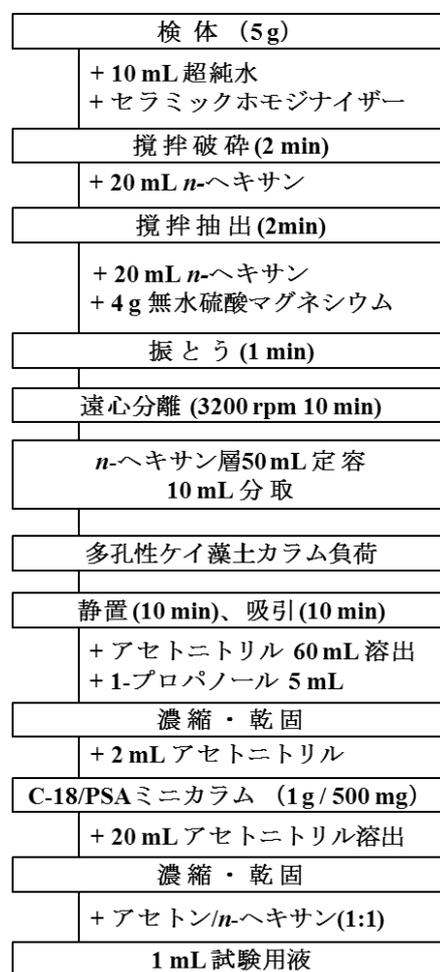


図6 迅速検査法フロー

表3 妥当性評価結果

	牛			豚			鶏		
	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
α-BHC	82.3	6.7	12.7	81.4	5.2	11.2	87.4	3.3	10.7
β-BHC	105.1	7.2	8.3	90.5	4.9	24.1	110.1	4.8	10.6
γ-BHC	89.3	4.9	6.5	84.8	4.0	9.5	92.0	3.4	10.0
δ-BHC	99.4	5.4	8.9	87.2	4.2	10.3	93.7	6.3	8.8
p,p-DDD	108.3	8.2	10.1	94.2	5.6	11.8	100.2	9.2	10.2
p,p-DDE	108.4	8.2	9.1	94.5	5.6	10.3	98.2	7.6	9.3
o,p-DDT	106.0	7.7	9.6	91.6	4.9	12.3	98.5	6.8	8.9
p,p-DDT	107.1	8.1	11.1	92.8	6.1	11.8	98.2	9.1	9.8
アルドリン	90.5	7.2	6.7	87.5	3.2	13.0	96.7	3.2	10.1
ディルドリン	107.2	8.3	7.7	93.0	4.1	11.5	102.5	6.2	8.1
エンドリン	107.1	7.3	6.0	90.7	6.8	14.0	101.5	8.0	11.8
ヘプタクロル	91.3	6.9	7.2	91.0	3.1	11.8	99.0	3.1	10.4
ヘプタクロルexo	104.4	7.2	7.0	94.5	3.1	11.3	104.3	4.8	7.8
ヘプタクロルendo	104.4	7.0	6.8	92.2	3.0	11.8	102.9	5.0	7.8

目標値 回収率 : 70~120%
 併行精度 : 10RSD%未満 (総BHCは25RSD%未満)
 室内精度 : 15RSD%未満 (総BHCは30RSD%未満)