

茶葉中の残留農薬実態調査

Survey of pesticide residues in tea leaves

森岡浩文 湯淺友識 野崎祐司 樺山恭子¹⁾

Hirofumi MORIOKA, Tomonori YUASA, Yuji NOZAKI, Kyoko KABAYAMA

Abstract

Consumers have a strong interest in the safety of tea, especially for pesticide residue. The simultaneous analytical pesticide residue method of tea using GC/MS has problems of being pesticides which cannot be measured by the interfering of tea origin and be polluting equipment. The caffeine included in tea is a serious trouble to analyze the pesticide residue, and the device pollution is caused. We investigated a method of removing caffeine with the analytical method of the pesticide residue. In addition, we investigated pesticide residues in tea products by using the improved method.

Key words: tea, pesticide, residue, caffeine, GC/MS

はじめに

近年、消費者の残留農薬への関心は高く、特に日常的に摂取される茶葉は、飲用のみならず食べるお茶としても市場に多く流通していることもあり農薬残留が懸念されている。

本県は茶の生産量が全国第4位の生産県であるが、当所で実施している食品衛生法に基づく残留農薬検査では、過去の茶葉からの残留農薬検出がなかったことから平成15年以降検査対象としていない。

平成17年にポジティブリスト制の施行に伴い残留農薬一斉試験法が示されたが、この試験法による茶の残留農薬分析では、GC/MSで測定すると妨害成分の影響を大きく受け、また測定機器への汚染が著しく多検体分析を行う上で大きな問題となっている。

茶由来の妨害成分の主成分は、カフェインである。カフェインは、残留農薬分析で使用される抽出溶媒アセトンやアセトニトリルに溶解性を持つため容易に抽出されてしまう。また、カフェインを除去するためシリカゲルカラムを用いた精製法では、カフェインと似た挙動を示す農薬も除去されてしまう問題点がある。

今回、通知試験法にカフェイン除去操作を加え、

GC/MS測定を行ったところ、若干の知見が得られたので、同時に行った市販茶葉の残留農薬実態調査とあわせて報告する。

材料と方法

1. 試料

平成23年6月に宮崎市内の小売店で購入した15検体を用いた。

2. 測定対象農薬

GC/MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)(以下、通知試験法)およびLC/MSによる農薬等の一斉試験法Iに示された農薬を分析対象とした。

3. 試薬及び試液

農薬混合標準溶液は、GC/MS用として和光純薬工業(株)製を適宜、希釈して用いた。

アセトニトリル、アセトン、ヘキサン、トルエン及び酢酸エチルは、和光純薬(株)製の残留農薬試験用を用いた。塩化ナトリウム(特級)、リン酸二水素カリウム(特級)、リン酸水素二カリウム(特級)、クエン酸(特級)及びクエン酸ナトリウム(特級)は、和光純薬工業(株)製を用いた。

NAGINATA 内部標準液(50 μ g/ml ヘキサン)西

¹⁾現 県立宮崎病院

川計測(株)製は、1 μ g/mlに希釈して使用した。クエン酸緩衝液(pH5.4)は、0.1Mクエン酸160mLと0.1Mクエン酸ナトリウム340mLを蒸留水で1Lとし作成した。固相カラムは、Bond Elute C18 1g (Agilent 製) (以下、C18カラム)、ENVI-Carb/LC-NH2 500mg/500mg (SUPELCO 製) (以下、GC/NH2カラム)を用いた。

4. 装置

GC/MS : Agilent 社製 7890A/5975C

5. 測定条件

GC/MSの測定では、Agilent社製HP-5MS(30m, 内径0.25mm,膜厚0.25 μ m)キャピラリーカラムを用い、カラム温度は、50 $^{\circ}$ C(1分)-25 $^{\circ}$ C/分-125 $^{\circ}$ C(0分)-10 $^{\circ}$ C/分-300 $^{\circ}$ C(10分)、注入口温度は、250 $^{\circ}$ Cキャリアーガスは、高純度ヘリウムガス、イオン化モードはEI、測定モードはsim/scanで同時に測定した。

6. 試験溶液の調製

通知試験法に準拠し、以下のとおり実施した。(Fig.1)

茶葉を粉砕した後、5.0gをとり試験に供した。添加回収試験は、0.5 μ g/mLの農薬混合標準液を1.0mL加え(試料中濃度0.1 μ g/g)、30分間室温に放置した後、試験品と同様に試験に供した。試料に水20mLを添加し15分放置後、アセトニトリル50mLを加え、3分間ホモジナイズした後、ろ紙(No.5A)を用いて吸引ろ過した。残留物にアセトニトリル20mLを加え、再度ホモジナイズした後、吸引ろ過した。先に得られたろ液と合わせてアセトニトリルで100mLに定容し、抽出液とした。あらかじめ塩化ナトリウム10g及び0.5mol/Lリン酸緩衝液(pH7.0)20mLを入れた分液漏斗に抽出液20mLを取り、10分間振とうし、静置した後、分離した水層を除去した。アセトニトリル層をあらかじめアセトニトリル10mlでコンディショニングしたC18カラムに注入し、さらにアセトニトリル2mLを注入し、溶出液全量採った。この溶出液を40 $^{\circ}$ C以下で減圧濃縮し、窒素ガスで溶媒を除去後、アセトニトリル及びトルエン(3:1)混液4mLを加えて溶解した。あらかじめアセトニトリル及びトルエン(3:1)混

液20mLでコンディショニングしたGC/NH2カラムを2個連結し、試料溶解液を注入した後、アセトニトリル及びトルエン(3:1)混液40mLを注入し溶出液全量採った。この溶出液を40 $^{\circ}$ C以下で減圧濃縮し、最後に窒素ガスで溶媒を除去した。この後、以下の操作によりGC/MS測定用溶液とLC/MS/MS測定用溶液とした。

1) GC/MS 測定用試験溶液

残留物を酢酸エチル20mLに溶解し、酢酸エチル飽和0.1Mクエン酸緩衝液100mLで3回洗浄した。酢酸エチル層を分取し減圧濃縮した後、窒素ガスで溶媒を除去した。残留物に、NAGINATA内標1mLを加え溶解したものを試験溶液とした。

2) LC/MS/MS 測定用試験溶液

残留物にメタノール1mLを加え溶解したものを試験溶液とした。

結果及び考察

1. 茶由来成分の除去

通知試験法を用いた茶の残留農薬試験では、精製カラムとしてGC/NH2カラム(500mg/500mg)を使用することになっているが、十分な精製効果は、得られなかった。このカラムの充填量を2倍に増やしたGC/NH2カラム(1g/1g)も試してみたが、期待した精製効果は得られなかった。中野¹⁾らは、妨害成分の除去を目的に、通知試験法にC18ミニカラムを追加し、さらにGC/NH2カラムを2個連結して精製を行っている。この方法を試したところ最終試験溶液に着色がなくGC/MS測定でも精製効果が認められたものの測定時間の中央に、カフェインの大きなピークが認められ目的物質の測定を妨害した。

2. カフェイン除去

カフェイン除去を目的に数種類の固相カラムを検討したが、カフェインを特異的に除去することはできなかった。大藤²⁾らは、シリカゲルカラムによるカフェイン除去を報告している。しかし、岩屋³⁾らが通知試験法に、シリカゲルカラムを追加したところ、カフェインと似た挙動を示す農薬があることを報告している。

カフェインは、有機溶媒、水ともに可溶であるが、pHによって両者への溶解度が異なる特性が

ある。この特性を参考にしてカフェイン除去を試みた。酢酸エチルに溶解させたカフェイン 1mg を酢酸エチル飽和クエン酸緩衝液で洗浄したところ、ほとんどのカフェインは、クエン酸緩衝液に移行した。カフェインの酢酸エチル層からの除去効果は、カフェイン 1mg 添加に対して回収率 0.23%(n=5)と約 400 分の 1 に低減できた。

3. 添加回収試験

改良した試験法を用いた添加回収試験を行ったところ添加量 100ng/g、試行回数 5 回の添加回収試験で回収率 70%-120%を外れた農薬は 233 農薬中 10 農薬であった。回収率の良好な農薬は、いずれも変動係数 15%以下であった。(Table 1) 回収率の悪かった 10 農薬は、この試験の前に行った酢酸エチル-クエン酸緩衝液の操作で農薬が回収できるか確認した試験でも回収できなかった農薬であった。

食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価のガイドラインにいたる評価試験を検討するため、添加量 100ng/g、10ng/g の 2 濃度としそれぞれ 5 回試行で実施した。100ng/g 添加では、良好な結果となったが、10ng/g 添加では、注入量を増やすなど試みたが、ほとんどの農薬が回収できなかった。茶分析では、最終試験溶液は茶葉 1g 相当になるので、GC/MS の検量線の最低濃度に近い 10ppb を回収することは困難であった。このことから通知試験法をさらに改良した濃縮精製法が必要と考える。

4. 市販茶の残留農薬実態調査

市販の茶葉 15 品目を購入し、カフェイン除去操作と固相カラムの使用法をそれぞれ追加変更した GC/MS による通知試験法と LC/MS による農薬等の一斉試験法 I をあわせて実施したところ、15 品目中 10 品目で、6 種類の農薬を検出した。(Table 2)

検出した農薬は、いずれも基準値を大きく下回るものであった。また、検出された農薬は、いずれも茶に使用可能なもので適応外となるものはなかった。

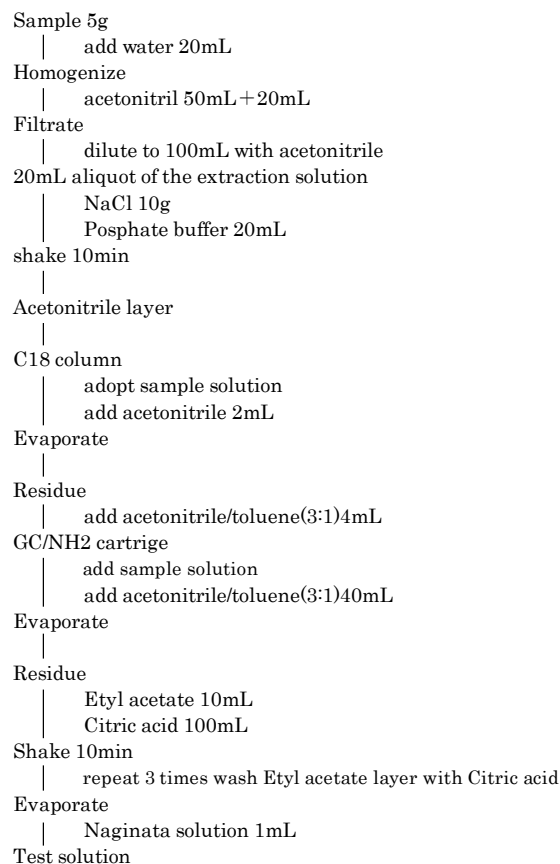


Fig.1 Analytical procedure for pesticides

Table 2 Detection of the pesticide residue

Pesticide residue	No. of sample	Detected level (μg/g)
Flufenoxuron	3/15	0.01(2), 8.4
Thiamethoxam	1/15	0.01
Thiacloprid	6/15	0.61, 0.03, 0.63, 0.14, 0.97, 0.11
Chlorfenapyr	2/15	0.08, 0.41
Tebuconazole	2/15	1.11, 0.36
Fenpropathrin	1/15	0.13

文 献

- 1)中野昌江：茶中の残留農薬分析法の検討,第45回全国衛生化学技術協議会年会講演集,77-78,(2008)
- 2)大藤升美：GC/MSによる農産物中残留農薬の一斉試験法の検討(Ⅲ),京都府保健環境研究所年報,43,16-19,(1998)
- 3)岩屋あまね：茶の残留農薬一斉分析における精製法の検討,鹿児島県環境保健センター所報,11,102-108,(2010)

Table 1. Recovery rate of the pesticides

No.	Pesticide	Recovery	SD	CV%	No.	Pesticide	Recovery	SD	CV%
1	1-Naphthylacetamide	110.6%	0.0069	6.3%	61	Diethofencarb	116.5%	0.0043	3.7%
2	Acetamidiprid	79.2%	0.0046	5.8%	62	Difenoconazole	86.8%	0.0050	5.8%
3	Acetochlor	90.2%	0.0046	5.1%	63	Diflufenican	111.5%	0.0052	4.6%
4	Acrinathrin	106.3%	0.0114	10.8%	64	Dimepiperate	108.8%	0.0067	6.2%
5	Alachlor	104.7%	0.0042	4.0%	65	Dimethametryn	97.1%	0.0033	3.4%
6	Aldrin	74.0%	0.0029	4.0%	66	Dimethenamid P	112.5%	0.0038	3.3%
7	Allethrin	91.1%	0.0075	8.2%	67	Dimethoate	113.8%	0.0036	3.2%
8	Ametryn	103.2%	0.0061	5.9%	68	Dimethylvinphos	105.4%	0.0043	4.0%
9	Anilofos	112.8%	0.0051	4.5%	69	Diphenamid	95.0%	0.0065	6.9%
10	Atrazine	95.2%	0.0071	7.5%	70	Edifenphos	110.6%	0.0067	6.1%
11	Azaconazole	95.3%	0.0050	5.3%	71	Endosulfan	86.3%	0.0047	5.5%
12	Azinphos methyl	108.2%	0.0079	7.3%	72	Endrin	78.7%	0.0046	5.8%
13	Benalaxyl	95.1%	0.0064	6.7%	73	EPN	98.5%	0.0032	3.2%
14	Benfluralin	97.9%	0.0049	5.0%	74	Epoxiconazole	98.9%	0.0141	14.2%
15	Benfuresate	111.6%	0.0046	4.1%	75	Esprocarb	92.2%	0.0051	5.6%
16	Benoxacor	80.2%	0.0068	8.4%	76	Ethalfuralin	101.9%	0.0043	4.2%
17	BHC (a-r)	90.6%	0.0062	6.8%	77	Ethion	107.0%	0.0053	4.9%
18	Bifenox	96.7%	0.0066	6.9%	78	Ethofenprox	114.3%	0.0037	3.3%
19	Bifenthrin	104.6%	0.0031	3.0%	79	Ethofumesate	99.0%	0.0039	3.9%
20	Bitertanol	99.3%	0.0096	9.6%	80	Ethoprophos	114.3%	0.0039	3.4%
21	Bromacil	113.3%	0.0041	3.6%	81	Ethylthiomethone	79.6%	0.0078	9.9%
22	Bromobutide	106.4%	0.0047	4.4%	82	Etoxazole	107.6%	0.0072	6.7%
23	Bromophos	92.1%	0.0039	4.2%	83	Fenamidone	107.2%	0.0041	3.9%
24	Bromophos ethyl	98.8%	0.0031	3.1%	84	Fenamiphos	113.7%	0.0037	3.2%
25	Bupirimate	83.6%	0.0071	8.5%	85	Fenarimol	81.0%	0.0073	9.0%
26	Buprofezin	103.4%	0.0070	6.8%	86	Fenbuconazole	110.7%	0.0060	5.4%
27	Butachlor	110.2%	0.0028	2.5%	87	Fenchlorphos	93.1%	0.0032	3.5%
28	Butamifos	105.1%	0.0092	8.8%	88	Fenitrothion	106.4%	0.0074	6.9%
29	Cadusafos	111.7%	0.0059	5.3%	89	Fenothiocarb	99.0%	0.0038	3.8%
30	Cafenstrole	116.1%	0.0025	2.1%	90	Fenoxanil	97.4%	0.0056	5.7%
31	Carboxifuran	112.5%	0.0080	7.1%	91	Fenpropathrin	100.6%	0.0027	2.6%
32	Carboxin	73.6%	0.0020	2.7%	92	Fenpropimorph	99.0%	0.0022	2.3%
33	Carfentrazone ethyl	106.6%	0.0030	2.8%	93	Fensulfthion	111.3%	0.0047	4.2%
34	Chlorbenside	92.1%	0.0035	3.8%	94	Fenthion	90.4%	0.0052	5.7%
35	Chlorethoxyphos	98.8%	0.0064	6.5%	95	Fipronil	108.3%	0.0058	5.4%
36	Chlorfenapyr	84.3%	0.0105	12.5%	96	Flamprop-methyl	111.9%	0.0077	6.9%
37	Chlorfenson	89.3%	0.0023	2.6%	97	Fluacrypyrim	111.9%	0.0043	3.9%
38	ChlorfenvinphosE	111.3%	0.0040	3.6%	98	Flucythrinate	114.1%	0.0030	2.6%
39	Chlorobenzilate	96.9%	0.0067	7.0%	99	Flufenpyr ethyl	115.8%	0.0026	2.2%
40	Chlorpropham	98.9%	0.0069	7.0%	100	Flumiclorac-pentyl	117.3%	0.0020	1.7%
41	Chlorpyrifos	87.6%	0.0030	3.4%	101	Flumioxazin	116.3%	0.0031	2.7%
42	Chlorpyrifos-methyl	93.2%	0.0033	3.5%	102	Fluquinconazole	109.4%	0.0027	2.4%
43	Chlorthal-dimethyl	73.6%	0.0036	4.9%	103	Fluridone	108.6%	0.0061	5.6%
44	Cinidon-ethyl	112.5%	0.0077	6.8%	104	Fluthiacet-methyl	91.3%	0.0097	10.6%
45	cis-Chlordane	74.8%	0.0017	2.3%	105	Flutolanil	109.4%	0.0029	2.6%
46	Clomazone	105.3%	0.0051	4.9%	106	Flutriafol	107.9%	0.0096	8.9%
47	Cyanazine	116.3%	0.0027	2.3%	107	Fluvalinate	104.1%	0.0023	2.2%
48	Cyanophos	103.8%	0.0085	8.2%	108	Formothion	94.9%	0.0111	11.7%
49	Cyfluthrin	97.8%	0.0048	4.9%	109	Fosthiazate	80.9%	0.0057	7.0%
50	Cyhalofop Butyl	107.8%	0.0094	8.7%	110	Fthalide	89.1%	0.0054	6.1%
51	Cyhalothrin	117.1%	0.0017	1.5%	111	Halfenprox	104.3%	0.0081	7.7%
52	Cypermethrin	103.2%	0.0086	8.3%	112	Heptachlor	78.6%	0.0062	7.9%
53	Cyproconazole	109.7%	0.0046	4.2%	113	Heptachlor Epoxide	80.7%	0.0014	1.7%
54	Deltamethrin+Tralomethrin	84.1%	0.0081	9.6%	114	Hexaconazole	107.7%	0.0077	7.2%
55	Diazinon	100.4%	0.0043	4.3%	115	Imazamethabenz Methylester	91.0%	0.0032	3.5%
56	Dichlofenthion	100.2%	0.0038	3.8%	116	Imibenconazole	95.2%	0.0108	11.3%
57	Diclocymet	101.9%	0.0042	4.1%	117	Imibenconazole-debenzyl	93.1%	0.0117	12.6%
58	Diclofop-methyl	91.5%	0.0032	3.5%	118	Iprobenfos (Kitazin)	114.9%	0.0037	3.2%
59	Dicloran(CNA)	97.2%	0.0126	13.0%	119	Isazophos	84.2%	0.0064	7.5%
60	Dieldrin	77.0%	0.0075	9.8%	120	Isofenphos	109.4%	0.0037	3.3%

No.	Pesticide	Recovery	SD	CV%	No.	Pesticide	Recovery	SD	CV%
121	Isoprothiolane	103.3%	0.0032	3.1%	181	Pyrazophos	105.7%	0.0056	5.3%
122	Isoxathion	97.7%	0.0062	6.4%	182	Pyrethrin	88.4%	0.0063	7.1%
123	Kresoxim methyl	98.1%	0.0080	8.2%	183	Pyributicarb	110.4%	0.0077	6.9%
124	Lenacil	113.8%	0.0013	1.1%	184	Pyridaben	109.6%	0.0065	6.0%
125	Malathion	114.2%	0.0047	4.1%	185	Pyridaphenthion	116.2%	0.0024	2.0%
126	Mecarbam	106.2%	0.0073	6.9%	186	Pyrifenox	104.8%	0.0047	4.5%
127	Mefenacet	103.7%	0.0045	4.3%	187	Pyrimethanil	100.2%	0.0039	3.9%
128	Mefenpyr diethyl	113.0%	0.0050	4.4%	188	Pyriminobac Methyl	107.3%	0.0051	4.8%
129	Mepronil	117.5%	0.0026	2.2%	189	Pyriproxyfen	100.1%	0.0137	13.7%
130	Metalaxy(Mefenoxam)	97.0%	0.0145	14.9%	190	Pyroquilon	74.6%	0.0026	3.5%
131	Methodathion	91.6%	0.0112	12.3%	191	Quinalphos	105.5%	0.0039	3.7%
132	Methoprene	107.5%	0.0065	6.1%	192	Quinoclamine	99.5%	0.0121	12.2%
133	Methoxychlor	96.5%	0.0036	3.7%	193	Quinoxifen	89.1%	0.0055	6.1%
134	Methylparathion	103.9%	0.0054	5.2%	194	Quintozene	85.0%	0.0049	5.8%
135	Metolachlor	98.5%	0.0044	4.5%	195	Simazine(CAT)	107.8%	0.0033	3.1%
136	Mevinphos	73.8%	0.0025	3.4%	196	Simetryn	106.4%	0.0042	3.9%
137	Monocrotophos	72.3%	0.0022	3.1%	197	Spirodiclofen	115.8%	0.0023	2.0%
138	Myclobutanil	109.0%	0.0072	6.6%	198	Tebuconazole	94.1%	0.0104	11.0%
139	Napropamide	101.7%	0.0026	2.6%	199	Tebufenpyrad	104.1%	0.0061	5.9%
140	Nitrothal-isopropyl	96.9%	0.0059	6.1%	200	Tecnazene	80.2%	0.0049	6.1%
141	Norflurazon	100.9%	0.0037	3.6%	201	Tefluthrin	105.7%	0.0031	2.9%
142	o,p'-DDT	74.4%	0.0036	4.8%	202	Terbacil	104.8%	0.0054	5.1%
143	Oxadiazon	96.6%	0.0064	6.6%	203	Terbufos	98.7%	0.0060	6.0%
144	Oxychlorthane	90.0%	0.0077	8.6%	204	Terbutryn	101.1%	0.0065	6.4%
145	Oxyfluorfen	86.9%	0.0037	4.3%	205	Tetrachlorvinphos	112.6%	0.0029	2.5%
146	p,p'-DDD	80.3%	0.0058	7.2%	206	Tetraconazole	104.0%	0.0061	5.8%
147	p,p'-DDE	71.6%	0.0016	2.2%	207	Tetradifon	93.4%	0.0129	13.8%
148	p,p'-DDT	88.7%	0.0053	6.0%	208	Thenylchlor	103.0%	0.0134	13.0%
149	Pacllobutrazol	114.5%	0.0025	2.2%	209	Thiobencarb	106.1%	0.0085	8.0%
150	Penconazole	117.9%	0.0014	1.2%	210	Tolclofos-methyl	91.3%	0.0032	3.5%
151	Pendimethalin	100.9%	0.0044	4.4%	211	Tolfenpyrade	116.1%	0.0025	2.1%
152	Permethrin	111.2%	0.0013	1.2%	212	trans-Chlordane	71.2%	0.0014	1.9%
153	Perthane	90.5%	0.0057	6.3%	213	Triadimefon	103.6%	0.0037	3.6%
154	Phenisobromolate	106.9%	0.0044	4.1%	214	Triadimenol	105.0%	0.0095	9.1%
155	Phenothrin	112.9%	0.0039	3.5%	215	Triallate	90.9%	0.0100	11.0%
156	Phenthoate	101.5%	0.0052	5.2%	216	Triazophos	102.0%	0.0071	7.0%
157	Phorate	113.7%	0.0074	6.5%	217	Tribufos(DEF)	109.1%	0.0006	0.6%
158	Phosalone	110.3%	0.0053	4.9%	218	Trifloxystrobin	115.2%	0.0043	3.7%
159	Phosmet	109.0%	0.0033	3.0%	219	Trifluralin	101.5%	0.0060	5.9%
160	Phosphamidon	75.3%	0.0009	1.2%	220	Uniconazole P	104.3%	0.0054	5.2%
161	Picolinafen	113.5%	0.0029	2.6%	221	Vinclozolin	94.9%	0.0030	3.2%
162	Piperophos	109.3%	0.0059	5.4%	222	XMC	109.2%	0.0028	2.6%
163	Pirimiphos-methyl	94.8%	0.0044	4.7%	223	Zoxamide	114.5%	0.0049	4.3%
164	Prathion	101.8%	0.0051	5.0%					
165	Pretilachlor	90.1%	0.0058	6.5%	1	4,4'-Dichlorobenzophenone	not recovery		
166	Profenofos	108.6%	0.0106	9.8%	2	Dicrotophos	not recovery		
167	Prohydrojasmon	93.5%	0.0063	6.7%	3	Fenvalerate	not recovery		
168	Prometryn	111.1%	0.0065	5.9%	4	Hexachlorobenzene	not recovery		
169	Propachlor	91.3%	0.0028	3.1%	5	Hexazinone	not recovery		
170	Propanil	114.7%	0.0020	1.8%	6	Isoprocarb	not recovery		
171	Propaphos	109.9%	0.0040	3.6%	7	Omethoate	not recovery		
172	Propargite	88.5%	0.0056	6.3%	8	Oxadixyl	not recovery		
173	Propazine	90.1%	0.0049	5.4%	9	Spiroxamin	not recovery		
174	Propiconazole	112.5%	0.0054	4.8%	10	Tricyclazole	not recovery		
175	Propoxur	104.3%	0.0043	4.2%					
176	Propyzamide	102.3%	0.0049	4.8%					
177	Prosymidone	72.9%	0.0028	3.8%					
178	Prothiofos	101.6%	0.0031	3.1%					
179	Pyraclufos	107.4%	0.0060	5.6%					
180	Pyraflufen ethyl	104.9%	0.0039	3.7%					