

# 有機リン系農薬分析時に食品から検出された未知ピークの 同定

誌名	食品衛生学雑誌
ISSN	00156426
著者	富澤, 早苗 高野, 伊知郎 小林, 麻紀 田村, 康宏 立石, 恭也 酒井, 奈穂子 北山, 恭子 永山, 敏廣 鎌田, 国広 斉藤, 和夫
巻/号	45巻5号
掲載ページ	p. 259-263
発行年月	2004年10月

## ノート

## 有機リン系農薬分析時に食品から検出された未知ピークの同定

(平成 16 年 4 月 22 日受理)

富澤早苗\*<sup>†</sup> 高野伊知郎\* 小林麻紀\* 田村康宏\* 立石恭也\*  
 酒井奈穂子\* 北山恭子\* 永山敏廣\* 鎌田国広\* 斉藤和夫\*

## Identification of Unknown Peaks in Foods during Residual Pesticide Analysis

Sanae TOMIZAWA<sup>†</sup>, Ichiro TAKANO, Maki KOBAYASHI, Yasuhiro TAMURA,  
 Yukinari TATEISHI, Naoko SAKAI, Kyoko KITAYAMA,  
 Toshihiro NAGAYAMA, Kunihiro KAMATA  
 and Kazuo SAITO

(The Tokyo Metropolitan Institute of Public Health: 3-24-1, Hyakunin-cho,  
 Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan; <sup>†</sup> Corresponding author)

Four unknown peaks were detected in GC chromatograms during analysis of organophosphorus pesticide residues in foods. They were identified by using GC/MS as triethyl phosphate (TEP), tributyl phosphate (TBP), diphenyl 2-ethylhexyl phosphate (DPEHP) and *N*-ethyltoluenesulfoneamide (NETSA), which are used as plasticizers or flame retardants in food packaging. These chemical substances were detected in the range of tr. (below 0.01 μg/g) to 11 μg/g from 29 samples, and they were also detected in the packaging. It was supposed that they were transferred to the foods from the packaging. Furthermore, they were detected in some cereals and cereal products which contain fat and had been preserved for a long time.

(Received April 22, 2004)

**Key words:** 残留農薬 pesticide residue; 有機リン系農薬 organophosphorus pesticide; 可塑剤 plasticizer; 難燃剤 flame retardant; リン酸トリエチル triethyl phosphate; リン酸トリブチル tributyl phosphate; リン酸ジフェニル 2-エチルヘキシル diphenyl 2-ethylhexyl phosphate; *N*-エチルトルエンスルホンアミド *N*-ethyltoluenesulfoneamide; 包装容器 packaging

## 緒言

近年環境汚染物質、ダイオキシン、農薬、食品添加物など、さまざまな化学物質の食品への混入や添加に対し消費者は不安を抱いている。特に食品への化学物質の混入は、生産過程のみならず保存や流通など食品と接するあらゆる過程で発生する可能性があり、「食の安全」に大きな関心が寄せられている。

著者らは長年食品中の農薬の残留調査を継続的に行い、その残留実態を明らかにしてきた<sup>1)~3)</sup>。有機リン系農薬の分析には GC-FPD, GC-FTD を併用しているが、クロマトグラム上にしばしば未知ピークが検出され、食品中の残留農薬の分析を妨害することがある。未知ピークは食品中の天然成分であることが多いが、測定対象としていない農薬や他の化学物質である可能性も考えられ、食品の安全性を評価する上で未知ピークを同定することは重要である。

本稿では、平成 13 年度の有機リン系農薬の分析時に、

検出された未知ピークについて同定し、その由来が包装容器中の成分として推測できた 4 種類の化学物質について報告する。

## 実験方法

## 1. 試料

平成 13 年度国内で市販されていた、国産または輸入された生鮮農産物、穀類加工品、野菜・果実加工品など計 428 検体およびそれらの包装容器を試料とした。

## 2. 試薬

Triethyl phosphate, *N*-ethyltoluenesulfoneamide (*o*-, *p*-混合), diphenyl 2-ethylhexyl phosphate は東京化成工業(株)製, tributyl phosphate は和光純薬工業(株)製を用い、*n*-ヘキサンに溶解して標準溶液とした。

試料抽出液の精製には Waters 社製 Sep-Pak<sup>®</sup> Plus Florisil ミニカラムを用いた。

## 3. 残留農薬分析法と試料の精製

永山らの有機リン系残留農薬分析法<sup>4)</sup>に従った。未知ピークが検出された試料抽出液は、Florisil<sup>®</sup> ミニカラム

<sup>†</sup> 連絡先

\* 東京都健康安全研究センター: 〒169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

を用いて、1, 2, 5, 15, 50 v/v% の濃度のアセトン含有 *n*-ヘキサン混液で分画した後、それぞれを分析した。

#### 4. 装置および測定条件

ガスクロマトグラフ (GC): (株)島津製作所製 GC-14B (検出器: 炎光度型検出器 (FPD) およびアルカリ熱イオン化検出器 (FTD), カラム: FPD 側 DB-210 (0.53 mm i.d.×30 m, 膜厚 1.5 μm), FTD 側 DB-1 (0.53 mm i.d.×30 m, 膜厚 1.0 μm) J&W 社製, カラム昇温条件: 80°C (1 min)→8°C/min→240°C (7 min), 注入口温度: 250°C, 検出器温度: 280°C, 注入量: 5 μL

ガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC/MS): (株)島津製作所製 GCMS-QP5000, カラム: DB-210MS (0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚 0.25 μm) J&W 社製, カラム昇温条件: 80°C (1 min)→8°C/min→240°C (7 min), 注入口温度: 250°C, 注入量: 1 μL, インターフェイス温度: 240°C, イオン化電圧: 70 eV, イオン化モード: EI, 測定モー

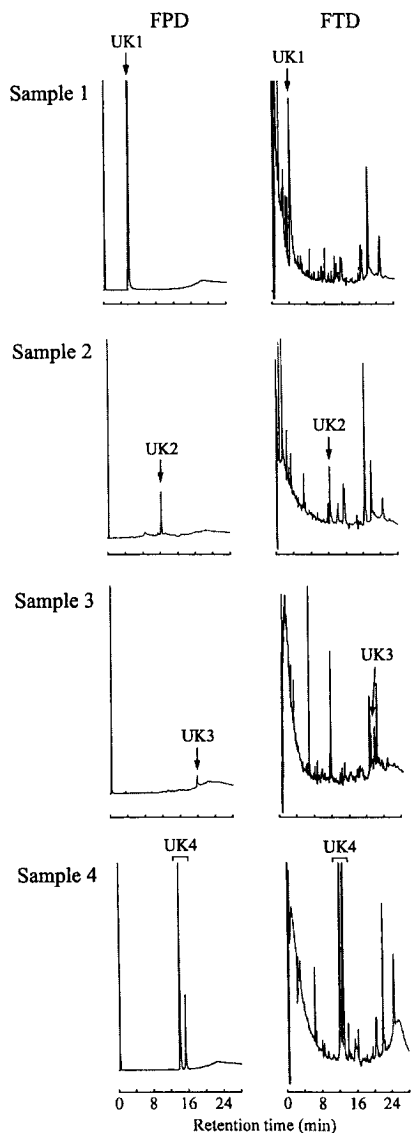


Fig. 1. GC chromatograms of unknown peaks  
UK indicates unknown peak.  
Sample 1, 2, 4: cereals, Sample 3: dried fruit

ド: SCAN.

#### 5. 包装容器中の化学物質の分析方法

河村らの方法<sup>5)</sup>に従い試験溶液を調製し, GCにより定性および定量を行った。

#### 結果および考察

##### 1. 未知ピークの検出と同定

Fig. 1 に, 未知ピークが検出された試料のクロマトグラムを示した. 試料 1, 2, 4 は穀類加工品, 試料 3 はドライフルーツの抽出液で, それぞれ未知ピーク (UK1, UK2, UK3, UK4) が検出された. これら 4 種類の検体から得られた未知ピークは保持時間が既知の農薬のどれにも合致しなかったが, ピークが FPD, FTD の両方の検出器で検出されたことから, リンを含有する物質と推察された.

試料 1 の抽出液を Florisil® ミニカラムに負荷し, *n*-ヘキサン中のアセトン量を 1, 2, 5, 15, 50 v/v% の 5 段階の各濃度 10 mL で分画し GC で測定したところ, 15% アセトン-*n*-ヘキサン混液の分画にピークが検出された (Fig. 2A(a), (b)). この分画の溶出液を GC/MS で測定して得られたマススペクトル (Fig. 2A(c)) から, この未知ピークは triethyl phosphate (以下 TEP と略す) と推定された. そこで, このピークと TEP 標準品の GC におけるピーク保持時間 ( $t_R$ , 分) およびマススペクトル (Fig. 2B) を比較した. その結果, UK1 のピーク保持時間および分子イオンピークならびにフラグメントイオンの出現パターン ( $m/z$  および 相対ピーク強度 (%)) が [ $t_R$  5.8,  $m/z$  182 (5,  $M^+$ ),  $m/z$  155 (80), 127 (60), 109 (45), 99 (100), 81 (53)] とすべて一致したことからこのピークを TEP と同定した.

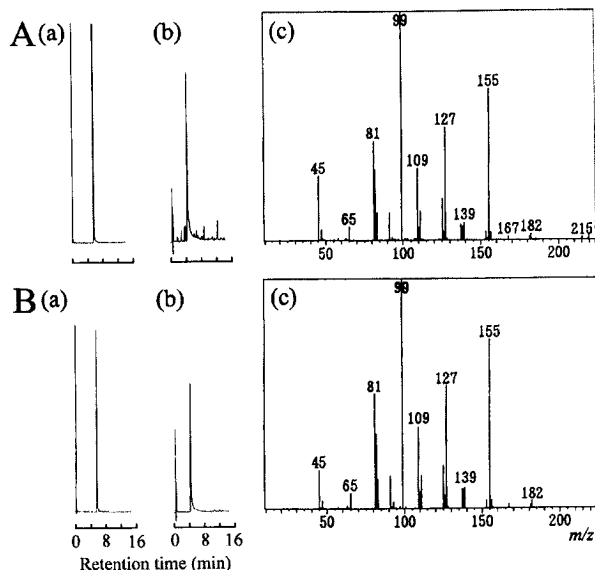


Fig. 2. GC chromatograms and mass spectra of test solution of sample 1 and TEP standard  
A: 15% Acetone-*n*-hexane fraction of sample 1 in Fig. 1, B: TEP standard  
(a) GC-FPD, (b) GC-FTD, (c) mass spectrum

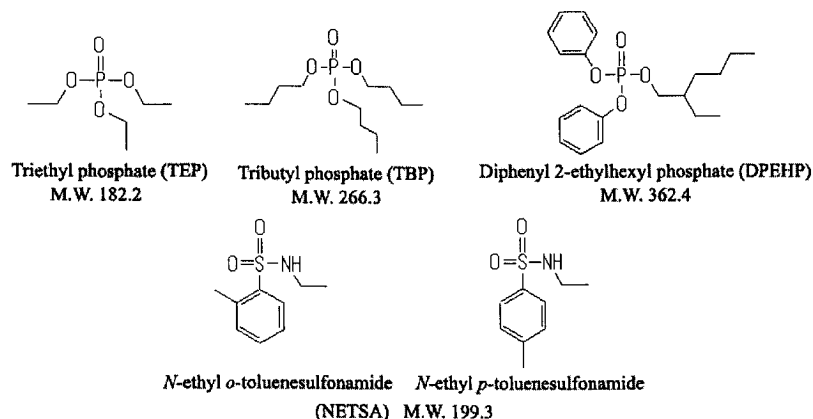


Fig. 3. Structures of isolated chemical substances  
M.W.: molecular weight

Table 1. Chemical Residues in Foods

Sample	No. of Samples	TEP		TBP		DPEHP		NETSA	
		No. of positive	Residue ( $\mu\text{g/g}$ )	No. of positive	Residue ( $\mu\text{g/g}$ )	No. of positive	Residue ( $\mu\text{g/g}$ )	No. of positive	Residue ( $\mu\text{g/g}$ )
Cereal flakes	11			5	tr.*, tr., 0.01, 0.01, 0.05				
Flour	4			1	0.01				
Oatmeal	5	1	0.27					2	3.7, 11
Pasta	15	3	0.07, 0.09, 0.09	2	tr., 0.01				
Small red bean	1			1	tr.				
Burdock	5	1	tr.						
Potato	1			1	tr.				
Kiwi	6					5	0.01, 0.01, 0.02, 0.03, 0.03		
Pineapple	3					1	0.05		
Dried fruits	33					1	0.05		
Fried corn chips	3					3	0.03, 0.03, 0.03		
Jam	7					1	tr.		
Tomatoes sauce	6			1	0.01				
Total No. and range of concentration	100	5	tr.-0.27	6	tr.-0.05	11	tr.-0.05	2	3.7, 11

\* tr.: below 0.01  $\mu\text{g/g}$

試料 2, 3, 4 の未知ピーク UK2, 3, 4 も Florisil® ミニカラムに負荷して分画し, GC で測定した. UK2 は 15%, UK3 は 5%, UK4 は 2 本とも 15% アセトン-*n*-ヘキサン混液の分画にピークが検出された. おのおの GC/MS で測定した結果, UK2 は tributyl phosphate (以下 TBP), UK3 は diphenyl 2-ethylhexyl phosphate (以下 DPEHP), UK4 は 2 本とも *N*-ethyltoluenesulfonamide (以下 NETSA) と推定された. これらの未知ピークは, TBP 標準品, DPEHP 標準品, NETSA (*o*-, *p*-混合) 標準品の GC ピーク保持時間, マススペクトルの分子イオンピークおよびフラグメントイオンの出現パターンがそれぞれすべて一致したことから, UK2 を TBP, UK3 を DPEHP, UK4 を NETSA と同定した.

同定された 4 つの化学物質の構造を Fig. 3 に示した. これらの化学物質は可塑剤や難燃剤として PET 樹脂や合成ゴム, 接着剤, 塗料, 印刷インキなどに使用されてお

り<sup>\*1, \*2, 6)~8)</sup>, 日常生活において身近に存在している物質である. 米国 FDA でもこれまでに TBP が穀類加工品やアップルソースなどから, DPEHP がマーガリンやキャラメルキャンディーなどから検出された例が報告されている<sup>\*3</sup>. DPEHP の TDI (1 日摂取耐容量) は 0.04 mg/kg 体重であり<sup>\*4</sup>, 無毒性可塑剤とされているが<sup>6)</sup>, その他 3 つの化学物質のヒトに対する詳細は不明である.

## 2. 化学物質の検出された食品とその検出量

4 種類の化学物質が検出された食品群 100 検体について, その検出数, 検出濃度を Table 1 に示した. 検出量

\*1 <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/sids5b07.htm>

\*2 <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc112.htm>

\*3 <http://www.cfsan.fda.gov/~acrobot/TDS1byp.pdf>

\*4 [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out10\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out10_en.pdf)

は TEP が 0.01  $\mu\text{g/g}$  未満 (trace: tr.) $\sim$ 0.27  $\mu\text{g/g}$ , TBP が tr. $\sim$ 0.05  $\mu\text{g/g}$ , DPEHP が tr. $\sim$ 0.05  $\mu\text{g/g}$ , NETSA が 3.7 および 11  $\mu\text{g/g}$  であった。これら 4 種のうち 2 種類以上が同時に検出された食品はなかった。

検出率はシリアルフレーク 45%, オートミール 60%, キウイフルーツ 83% など高率であった。特徴として生鮮食品より、比較的長期間保存できる食品で検出頻度が高く、そのうち穀類およびその加工品が検出総数の 62% を占めていた。

著者らは DPEHP が包装容器の印刷部分からキウイフルーツへ移行することをすでに報告している<sup>9)</sup>。このことから他の化学物質についても食品の加工・流通・保存の過程で使用された包装容器などから食品へ移行することが推測された。

### 3. 包装容器中の化学物質の検出

4 種の化学物質が検出された食品のうち包装容器である袋が直接食品に触れていた 18 検体について、河村らの方法<sup>5)</sup>に準じて試験溶液を作製し分析した。

試験対象の包装容器は、無色透明、乳白色半透明、無色透明地外面に部分的にカラー印刷のあるもの、不透明白地の外面に全面カラー印刷のあるものなどさまざまであった。カラー印刷が施されているものは、その使用色などの印刷部分の割合ができるだけ偏らないように留意して試験試料とした。

TEP, TBP, DPEHP, NETSA の検出された食品の包装袋から、それぞれ同一の化学物質が検出された。この結果から、食品から検出された化学物質は包装容器から食品へ移行したことが推測された。

各化学物質が検出された食品の原産国、食品からの検出濃度、包装容器からの検出濃度を Table 2 に示した。包装容器からの検出濃度は 0.04 $\sim$ 1,800  $\mu\text{g/g}$  と広範囲にわたっていた。シリアルフレーク中の TBP およびオートミール中の NETSA など食品と化学物質の組み合わせが同じ場合、容器包装中の各化学物質の濃度とその食品中の濃度との間には若干相関が認められた。しかし、同じ化学物質でも食品の種類により検出量に差が見られ、両者の間に明らかな相関は見いだせなかった。ばらつきがある要因として、袋や印刷インクの原料、包装されている食品の形態 (粉体、麺など)、調理加工方法、包装容器との接触面積および接触時間、保存温度などの条件が考えられた。

オートミールなど穀類加工品の食品からのこれらの化学物質の検出頻度が高かった。その要因として、生鮮食品に比べ包装容器に包まれた状態での保存期間が長く、さらに食品中の油脂成分含量が高いため疎水性の高いこれらの化学物質が穀類加工品に移行しやすいことが考えられた。

### ま と め

食品中に残留する有機リン系農薬を調査した際に

Table 2. Analysis Result of the Chemicals in Packaging

Sample	Country	TEP		TBP		DPEHP		NETSA	
		Residue in Food ( $\mu\text{g/g}$ )	Residue in Package ( $\mu\text{g/g}$ )	Residue in Food ( $\mu\text{g/g}$ )	Residue in Package ( $\mu\text{g/g}$ )	Residue in Food ( $\mu\text{g/g}$ )	Residue in Package ( $\mu\text{g/g}$ )	Residue in Food ( $\mu\text{g/g}$ )	Residue in Package ( $\mu\text{g/g}$ )
Cereal flakes (5) <sup>a</sup>	USA			tr. <sup>b</sup>	0.04				
	USA			tr.	0.19				
	USA			tr.	0.11				
	USA			0.01	0.14				
	USA			0.05	0.27				
Oatmeal (3)	UK	0.27	0.47						
	UK							3.7	49
	UK							11	110
Pasta (5)	Italy	0.09	15						
	Italy			tr.	3.7				
	Italy			0.01	3.5				
	France	0.08	4.7						
	France	0.09	13						
Small red bean (1)	China			tr.	7.2				
Dried Fruit (1)	Germany					0.05	1,800		
Fried corn chips (3)	USA					0.03	1.3		
	USA					0.03	1.0		
	USA					0.03	0.83		

<sup>a</sup> The data in the parentheses represent the number of tested samples.

<sup>b</sup> tr.: below 0.01  $\mu\text{g/g}$

GC-FPD, GC-FTD クロマトグラム上に出現した未知ピークについて同定を試みた。

ミニカラムで4種類の未知ピークを分離した。GC保持時間およびマススペクトルが各標準品と一致したことから、それぞれ TEP, TBP, DPEHP, NETSA と同定した。また、未知ピークの検出された食品の包装容器である袋を分析した結果、それぞれの食品から検出された化学物質と同一のものが検出された。

今回同定された化学物質は、流通・保存などの過程で容器および印刷用材などから食品に移行したことが推測された。化学物質の包装容器中の濃度と試料中濃度との間に明確な関係は見いだせなかったが、油脂成分が多く長期保存する穀類加工品に移行しやすい傾向が見られた。今後、化学物質の種類によっては長期間の摂取による影響を検討する必要があると考えられる。また、食品中の残留農薬を分析する際には、包装容器から食品への化学物質の移行の可能性を考慮するとともに、その妨害を受けている農薬の検出の見落としを防止するなど注意する必要があると思われる。

## 文 献

- 1) Takano, I., Nagayama, T., Kobayashi, M., Tamura, Y., Tomizawa, S., Tateishi, Y., Kimura, N., Kitayama, K., Saito, K., Survey of pesticide residues in domestic vegetables and fruits—Apr. 2001–Mar. 2002—. Tokyotoritsu Eisei Kenkyusho Kenkyu Nenpo (Ann. Rep. Tokyo Metro. Res. Lab. P. H.), **53**, 113–118 (2002).
- 2) Tomizawa, S., Nagayama, T., Takano, I., Kobayashi, M., Tamura, Y., Tateishi, Y., Kimura, N., Kitayama, K., Saito, K., Survey of pesticide residues in imported crops (Organophosphorus and organonitrogen pesticides)—Apr. 2001–Mar. 2002—. Tokyotoritsu Eisei Kenkyusho Kenkyu Nenpo (Ann. Rep. Tokyo Metro. Res. Lab. P. H.), **53**, 119–124 (2002).
- 3) Kobayashi, M., Nagayama, T., Takano, I., Tamura, Y., Tomizawa, S., Tateishi, Y., Kimura, N., Kitayama, K., Saito, K., Survey of pesticide residues in imported crops (Organochlorine, *N*-methyl carbamate and the other pesticides)—Apr. 2001–Mar. 2002—. Tokyotoritsu Eisei Kenkyusho Kenkyu Nenpo (Ann. Rep. Tokyo Metro. Res. Lab. P. H.), **53**, 125–130 (2002).
- 4) Nagayama, T., Kobayashi, M., Ito, M., Shioda, H., Tomomatsu, T., Organophosphorus pesticide residues in imported cereal products (1988–1994). Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **37**, 411–417 (1996).
- 5) Kawamura, Y., Yonezawa, R., Maehara, T., Yamada, T., Determination of additives in food contact polypropylene. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **41**, 154–161 (2000).
- 6) Goto, K., “Zoho Purasuchikku Oyobi Gomuyo Tenkazai Jitsuyobinran”, Tokyo, Kagaku Kogyosha, 1987, p. 113, 463.
- 7) Hisae, O., Shinshi, O., Kogo, H., Toxicity of several phosphoric acid esters in rats. Toxicol. Lett., **13**, 29–34 (1982).
- 8) “13700 no kagakushouhin”, Tokyo, Kagakukougyouinppousha, 1987, p. 610, 878, 879. (ISBN 4-87326-325-5)
- 9) Tamura, Y., Nagayama, T., Takano, I., Kobayashi, M., Tomizawa, S., Tateishi, Y., Kimura, N., Kitayama, K., Saito, K., Identification of chemical detected in kiwi fruit during analysis for residual pesticide. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **43**, 362–365 (2002).