

電子イオン化法を用いた GC/MS による漢方製剤中のピレスロイド系農薬を 対象とした簡便・迅速分析

田上貴臣* 武田章弘* 浅田安紀子* 青山愛倫*
土井崇広* 梶村計志* 沢辺善之*

電子イオン化法を用いた GC/MS による漢方製剤中のピレスロイド系農薬を対象とした簡便・迅速な分析法について検討を行った。9 製剤を対象として分析法の妥当性を確認したところ、8 製剤については良好な回収率及び再現性が得られた。以上のことから、今回検討を行った方法は、漢方製剤中のピレスロイド系農薬の分析法として有用であると考えられた。

キーワード：漢方製剤、残留農薬、ピレスロイド系農薬、電子イオン化法

Key words : kampo products, pesticide residue, pyrethroid pesticide, electron ionization

漢方製剤の原料である生薬は天産物であり、その多くは植物を原料としている。生薬の原料として野生品を用いる場合には、生薬に農薬が残留している可能性は低いと考えられるが、現在、生薬の主な輸入先である中国においても 6 割程度が栽培品であるといわれ、栽培時に農薬が使用される可能性がある¹⁾。わが国では、生薬中の残留農薬は、日本薬局方により規制されており、一部の生薬を対象として α -benzenehexachloride (BHC)、 β -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC の合計である総 BHC 及び *p,p'*-dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE)、*o,p'*-dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)、*p,p'*-dichlorodiphenyldichloroethane (DDD)、*p,p'*-DDT の合計である総 DDT としてそれぞれ 0.2 ppm 以下という残留基準が設定されている。一方、漢方製剤中の残留農薬は法的には規制されていないが、日本漢方生薬製剤協会は、一部の生薬を配合する漢方製剤を対象として、有機塩素系農薬について、総 BHC (0.2 ppm 以下) 及び総

DDT (0.2 ppm 以下)、ピレスロイド系農薬について、シペルメトリン (1.0 ppm 以下) 及びフェンバレレート (1.5 ppm 以下)、有機リン系農薬について、パラチオン (0.5 ppm 以下)、パラチオンメチル (0.2 ppm 以下)、メチダチオン (0.2 ppm 以下)、マラチオン (1.0 ppm 以下) の自主的な残留基準を定めている。

これまでに生薬からは、有機塩素系農薬やピレスロイド系農薬などの検出事例がある^{2,3)}。このことから、生薬原料の栽培時にピレスロイド系農薬が使用されている可能性がある。脂溶性の農薬は、水抽出液には移行しにくく、移行した農薬についても分解や揮散により消失することが報告されている^{2,3,4)}。漢方製剤の製造方法から考えると、脂溶性の農薬が漢方製剤に高濃度に残留している可能性は低いと考えられるが、その残留実態を確認するためには残留農薬の分析を行う必要がある。我々は、負化学イオン化 (negative chemical ionization : NCI) 法を用いた質量分析計 (mass spectrometer : MS) 付きガスクロマトグラフ (gas chromatograph : GC) による漢方製剤中のピレスロイド系農薬を対象とした簡便・迅速な分析法を報告している⁵⁾。NCI 法は、塩素などを含有する電子親和性の高い化合物に対して、選択性の高いイオン化法であるため、夾雑物の多い生薬中の電子親和性の高い残留農薬の分析法として有用であるが、EI 法に比べ汎用性が低い。本研究では、汎用性の高い電子イオン化法 (electron ionization : EI) 法を用いて NCI 法と同じ試料溶

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課

Simple and Rapid Determination of Pyrethroid

Pesticide Residues in Kampo Products by Gas

Chromatography-Mass Spectrometry with Electron

Ionization. by Takaomi TAGAMI, Akihiro TAKEDA, Akiko

ASADA, Airin AOYAMA, Takahiro DOI, Keiji KAJIMURA and

Yoshiyuki SAWABE

液の分析が可能か検討を行った。

実験方法

1. 試料

平成 21 年～平成 23 年に購入した漢方製剤（医療用医薬品：補中益気湯、大建中湯、柴苓湯、加味逍遙散、小柴胡湯、麦門冬湯、牛車腎気丸、六君子湯、小青竜湯）を用いた。これらの 9 製剤は、いずれもわが国で販売及び輸入金額が上位 10 位以内であり、多くの製品が国内で流通している。

2. 対象農薬

日本漢方生薬製剤協会では、漢方製剤中のピレスロイド系農薬を対象とした自主基準として、シペルメトリン及びフェンバレーートの残留基準を定めている。また、中国における日本向け食材を対象とした残留農薬の検査⁶⁾では、シペルメトリン、フェンバレーートは、それぞれ検出数上位 1 位及び 2 位であることから、シペルメトリン及びフェンバレーートを対象とした。

3. 試薬

農薬標準品は、Dr. Ehrenstorfer GmbH.から購入した。その他の試薬は、和光純薬工業株式会社製を用いた。

4. 標準溶液の調製

各農薬標準品をノルマルヘキサン（以下、ヘキサンと記載する）に溶解し、標準原液(500 ppm)とした。各標準原液を混合したものを添加用標準溶液（5 ppm）とした。添加用標準溶液をヘキサンの希釈して標準溶液とした。

5. 試料溶液の調製

試料溶液は、NCI 法を用いた GC/MS による分析法⁵⁾に準じて調製した。粉碎した漢方製剤 5 g をポリチューブに採取し、アセトン 10 mL 及びヘキサン 20 mL を加え、30 分間振とうし、遠心分離した。上澄みに水 20 mL を加え、5 分間振とうした。ヘキサン層 5 mL をとり、無水硫酸ナトリウム 1 g を加えて脱水した。ヘキサン層 2 mL をとり、ヘキサン 3 mL を加えて混合し、試料溶液（試料換算：0.1 g/mL）とした。

6. 装置及び測定条件

GC-MS は、Agilent 6890N GC-5973N MSD を用いて以下の条件で測定した。測定条件は、NCI 法を用いた GC/MS による分析法⁵⁾を参考に設定した。カラム：DB-1701(0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚 0.25 μm (Agilent)、キャリアガス：ヘリウム、キャリアガス流量：1.7 mL/分、注入口温度：200℃、カラム温度：初期温度 50℃で 1 分間保持した後、100℃まで 30℃/分で昇温した。その後、270℃まで 25℃/分で昇温し、270℃で 20 分間保持した。インターフェース温度：270℃、イオン源温度：230℃、注入量：2 μL、注入方法：スプリットレス、モニタリングイオン：シペルメトリン (m/z : 181 [定量イオン]、163)、フェンバレーート (m/z : 167 [定量イオン]、125)

GC/MS を安定化させるため、試料溶液を数回注入した後、分析を行った。

結果及び考察

1. 直線性

標準原液を段階的に希釈し、20-1000 ppb の範囲で直線性を検討したところ、相関係数は 0.9986（シペルメトリン）及び 0.9974（フェンバレーート）であり、良好な直

表1 添加回収試験

漢方製剤	シペルメトリン		フェンバレーート	
	平均回収率(%)	相対標準偏差(%)	平均回収率(%)	相対標準偏差(%)
補中益気湯	108.8	1.1	103.9	1.7
大建中湯	116.3	4.2	107.0	3.4
柴苓湯	94.3	2.9	88.3	4.8
加味逍遙散	112.7	3.9	101.3	4.7
小柴胡湯	109.9	3.0	104.7	3.7
麦門冬湯	104.7	4.1	102.3	3.2
牛車腎気丸	110.3	3.3	108.1	4.9
六君子湯	112.4	3.5	100.4	4.4

(n=3)

線性を示した。また、漢方製剤における定量限界はいずれも 0.2 ppm であった。

2. 添加回収試験

漢方製剤を対象として添加回収試験を行った。対象とした漢方製剤は、1. 試料に示した 9 製剤である。添加濃度は、自主基準を参考とし、1.0 $\mu\text{g/g}$ と設定した。添加回収試験の結果、小青竜湯以外の 8 製剤について、回収率は 88.3%-116.3%、相対標準偏差は 10%以下であった(表 1)。これらの結果から、EI 法を用いた場合においても、小青竜湯以外の 8 製剤に残留するピレスロイド系農薬を十分な真度及び精度をもって分析することが可能であると考えられた。

また、小青竜湯以外の 8 製剤のブランク試料溶液からは、妨害となるピークは認められなかった。例として標準溶液、小柴胡湯のブランク試料溶液から得られたクロマトグラムを図 1 に示した。

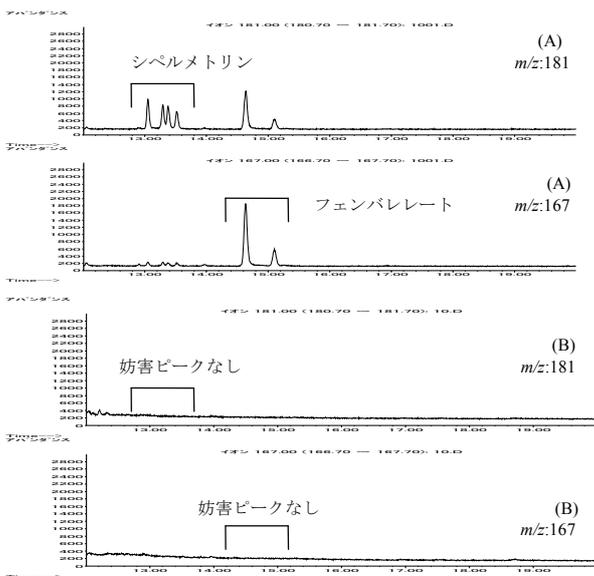


図1 EI法を用いたGC/MSによる小柴胡湯のクロマトグラム

- (A) 標準溶液 (各農薬: 0.1 ppm),
- (B) 小柴胡湯 (ブランク試料溶液)

小青竜湯については、試料に由来する妨害ピークが認められたことから、EI 法で分析することは困難であると考えられた。図 2 に標準溶液、小青竜湯のブランク試料溶液のクロマトグラムを示した。更に、比較のために NCI 法を用いたクロマトグラムを図 3 に示した。

NCI法を用いたGC/MSによる測定条件はイオン源温度(180°C)を除き、EI法と同じ条件とした。また、モニタリングイオンは、シペルメトリン (m/z : 207 [定量イオン]

ン)、171)、フェンバレート (m/z : 211 [定量イオン]、213) とした。小青竜湯から得られた試料溶液については、EI 法では妨害を受け、NCI 法では妨害を受けなかったことから、今回測定対象とした農薬については、EI 法に比べ NCI 法の方が選択性が高いと考えられた。しかし、NCI 法に比べ EI 法は一般的に使用されていることから、適用可能な製剤に限られるが、今回検討した分析法は、漢方製剤中のピレスロイド系農薬の簡便・迅速な分析に有用であると考えられた。

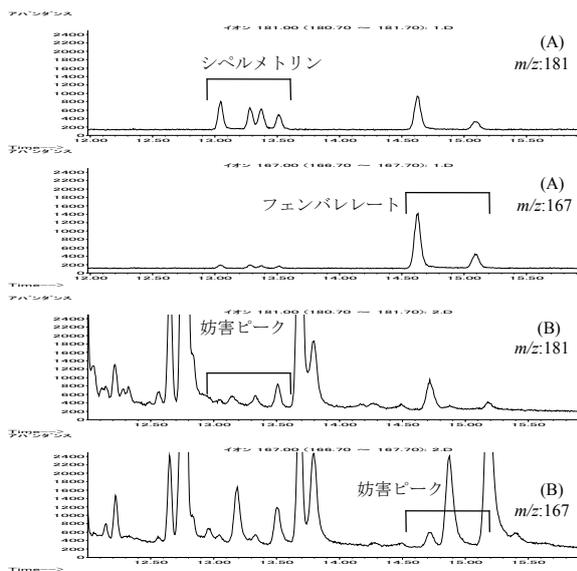


図2 EI法を用いたGC/MSによる小青竜湯のクロマトグラム

- (A) 標準溶液 (各農薬: 0.1 ppm),
- (B) 小青竜湯 (ブランク試料溶液)

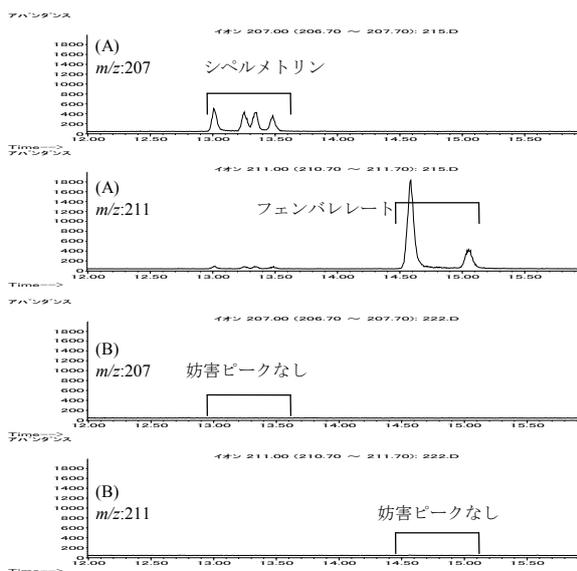


図3 NCI法を用いたGC/MSによる小青竜湯のクロマトグラム

- (A) 標準溶液 (各農薬: 0.1 ppm),
- (B) 小青竜湯 (ブランク試料溶液)

結論

EI 法を用いた GC/MS による漢方製剤中のピレスロイド系農薬の分析法を検討した。一部の製剤については試料由来の妨害ピークが認められたが、国内で販売されている主要な製剤について良好な回収率及び再現性が得られた。以上のことにより、本分析法は漢方製剤中のピレスロイド系農薬の簡便・迅速な分析法として有用であると考えられた。

文献

- 1) 西澤秀男：生薬中の農薬残留分析の現状とポジティブリスト制，防菌防黴，**35**，831～838（2007）
- 2) 吉岡直樹，秋山由美，三橋隆夫，畑中久勝，辻正彦，松下純雄：ニンジン・センナの残留農薬分析法の検討と実態調査，医薬品研究，**31**，225～231（2000）
- 3) 塩田寛子，浜野朋子，中島順一，下村壽一，末次大作，安田一郎：生薬及び煎出液に残留する有機リン系及びピレスロイド系農薬，東京都健康安全研究センター年報，**55**，43～47（2004）
- 4) 佐藤正幸，姉帯正樹，鎌倉浩之，合田幸広：生薬中に含まれる有機リン系農薬の漢方処方煎液への移行，医薬品研究，**41**，458～468（2010）
- 5) Takaomi Tagami, Keiji Kajimura, Katsuhiko Yamasaki, Yoshiyuki Sawabe, Chie Nomura, Shuzo Taguchi, Hiroataka Obana, Simple and Rapid Determination of Cypermethrin and Fenvalerate Residues in Kampo Products by Gas Chromatography / Mass Spectrometry with Negative Chemical Ionization. *Journal of Health Science*, **55**, 777-782 (2009)
- 6) 佐藤元昭：中国における食品安全と検査状況，食品衛生学雑誌，**50**，J-9～J-11（2009）