

GC/MSを用いた漢方製剤に残留するピレスロイド系農薬の実態調査

青山愛倫* 武田章弘* 田上貴臣* 沢辺善之*

11種類の漢方製剤についてGC/MSを用いて、ピレスロイド系農薬の分析法の検討を行ったところ、良好な回収率と再現性を示し、分析法としての妥当性を確認した。さらに、既に分析法の妥当性を確認している漢方製剤を加えた20種類141品目の漢方製剤について残留するピレスロイド系農薬の分析を行った。その結果、残留するピレスロイド系農薬は検出限界未満であった。

キーワード：漢方製剤、残留農薬、ピレスロイド系農薬、GC/MS

Key Words : kampo products, pesticide residue, pyrethroid pesticide, GC/MS

漢方製剤の原料である生薬は、植物に由来するものが多く、栽培品と野生品がある。現在、我が国の生薬の主な輸入先である中国では6割程度が栽培品であるといわれている¹⁾。栽培品には農作物と同じく農薬が使用される可能性があり、野生品の場合にも土壌汚染による農薬の移行や収穫後の農薬散布などによる農薬の残留が考えられる。

国内では、平成15年に4種類の生薬からピレスロイド系農薬が検出されたという事例があり²⁾、生薬の安全性が問題となった。さらに、厚生労働省の研究班により、生薬中の残留農薬について調査研究が行われ、8種類の生薬からピレスロイド系農薬が検出されたという報告がある³⁾。生薬中の残留農薬は、日本薬局方において14種類の生薬を対象に、総BHC (benzenehexachloride : γ -BHC, δ -BHC, ϵ -BHC の合計) と総DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane : o,p' -DDT, p,p' -DDT, p,p' -DDD [dichlorodiphenyldichloroethane], p,p' -DDE [dichlorodiphenyldichloroethylene]の合計)についてそれぞれ0.2 ppm以下という残留基準が定められている。また、法的な規制ではないが、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において、有機塩素系農薬(総BHC : 0.2 ppm以下、総DDT : 0.2 ppm以下)、有機リン

系農薬(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)、ピレスロイド系農薬(シペルメトリン : 1.0 ppm以下、フェンバレレート : 1.5 ppm以下)の自主基準を設定している。

生薬のほとんどは漢方処方として流通しており、通例、漢方処方は水で煎じられる⁴⁾。農薬の多くは脂溶性であり水への移行率は低いと考えられるが、漢方製剤は市場に広く流通し服用するものであるため、残留農薬の実態を把握する必要性があり、その分析は簡便・迅速に行われることが望ましい。

我々は既に質量分析計付きガスクロマトグラフ(Gas Chromatograph / Mass Spectrometry : GC/MS)の電子イオン化法(Electron Ionization : EI)⁵⁾及び負化学イオン化法(Negative Chemical Ionization : NCI)⁶⁾を用いた漢方製剤中のピレスロイド系農薬の簡便・迅速な分析法をそれぞれ報告している。

そこで今回、汎用性の高いEI法を用いて対象とする漢方製剤を拡大し、11種類の漢方製剤について代表的なピレスロイド系農薬であるシペルメトリン及びフェンバレレートの添加回収試験を行い、分析法の妥当性を確認した。また、20種類141品目の漢方製剤を対象として、実態調査を行った。また、一部の漢方製剤については、NCI法を用いた検討も行ったので報告する。

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課

Survey of Pyrethroid Pesticide Residues in Kampo Products by
Gas Chromatography / Mass Spectrometry

By Airin AOYAMA, Akihiro TAKEDA, Takaomi TAGAMI and
Yoshiyuki SAWABE

実験方法

1、試料

添加回収試験：平成 22 年に購入した、我が国における販売及び輸入金額上位 20 位以内の医療用漢方製剤のうち 11 種類(当帰芍薬散、芍薬甘草湯、葛根湯、桂枝茯苓丸、八味地黄丸、十全大補湯、防風通聖散、柴朴湯、猪苓湯、釣藤散、温経湯)を用いた。

実態調査：平成 22 年に購入した、我が国における販売及び輸入金額上位 20 位以内の医療用漢方製剤 20 種類 141 品目(補中益気湯 9 品目、大建中湯 2 品目、柴苓湯 2 品目、加味逍遥散 10 品目、小柴胡湯 11 品目、麦門冬湯 6 品目、牛車腎気丸 1 品目、六君子湯 9 品目、当帰芍薬散 12 品目、小青竜湯 7 品目、芍薬甘草湯 7 品目、葛根湯 11 品目、桂枝茯苓丸 12 品目、八味地黄丸 9 品目、十全大補湯 9 品目、防風通聖散 10 品目、柴朴湯 1 品目、猪苓湯 10 品目、釣藤散 1 品目、温経湯 2 品目)を用いた。

2、対象農薬

ピレスロイド系農薬の中から、中国における日本向け食材を対象とした残留農薬検査⁷⁾で検出上位 1 位及び 2 位であるシペルメトリンとフェンバレートを対象とした。

3、試薬

農薬標準品は、Dr. Ehrenstorfer GmbH から購入した。その他の試薬については、和光純薬工業株式会社から購入した。

4、標準溶液の調製

各農薬標準品をヘキサンに溶解し、標準原液(500 ppm)を調製した。各標準原液を混合しヘキサンで希釈し添加用混合標準溶液(5 ppm)を調製した。さらに、添加用混合標準溶液をヘキサンで希釈し、混合標準溶液とした。

5、試料溶液の調製

試料溶液は、前報⁵⁾⁶⁾に従って調製を行った。

粉碎した漢方製剤 5.0 g を正確に秤量し、アセトン 10 mL 及びヘキサン 20 mL を正確に加えた後、30 分間振とうし、遠心分離(3000 rpm, 10 min)を行った。上澄み液に水 20 mL を加え、5 分間振とう後、上層 5 mL をとり、無水硫酸ナトリウム 1 g で脱水した。この液 2 mL を正確にとり、ヘキサン 3 mL を加えて混合し、試料溶液とした(試料換算 0.1 g/mL)。

6、装置及び分析条件

装置は Agilent 社製 6890N GC-5973N MSD を用いた。分析条件は前報⁵⁾⁶⁾に従った。

[EI 法] カラム:DB-1701(Agilent 社製 0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚 0.25 μ m)、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 分間保持後、100℃まで 30℃/分で昇温し、270℃まで 25℃/分で昇温して 270℃で 20 分間保持した。インターフェイス温度 270℃、イオン源温度:230℃、注入量:2 μ L、注入方法:スプリットレス、モニタリングイオン(m/z):シペルメトリン(181 [定量イオン], 163)、フェンバレート(167 [定量イオン], 125)を用いた。

[NCI 法] イオン源温度:180℃、試薬ガス:メタンガス、モニタリングイオン(m/z):シペルメトリン(207 [定量イオン], 171)、フェンバレート(211 [定量イオン], 213)。その他の分析条件は EI 法と同じ分析条件とした。

GC/MS を安定させるため試料溶液を 5 回注入後に行った後に分析を行った。

本分析法の漢方製剤におけるシペルメトリン及びフェンバレートの検出限界は 0.1 ppm であった。

結果及び考察

1、添加回収試験

実験方法の 1、試料に示した 11 種類の漢方製剤を対象とし、EI 法による添加回収試験を行った。添加濃度は、1 ppm に設定した。添加回収試験の結果、回収率は 93.5～117.9%、相対標準偏差(RSD)は 14.8%以下であった(表 1)。設定した方法では、対象とした 11 種類の漢方製剤に残留するピレスロイド系農薬(シペルメトリン及びフェンバレート)を十分な真度と精度で分析可能であると判断した。また、妨害ピークは認められず、特異性も満足できるものであった。

2、実態調査

実験方法 1、試料に示した 20 種類(添加回収試験で検討した 11 種類及び前報⁵⁾の 9 種類)の漢方製剤について実態調査を行った。EI 法で妨害ピークが認められる小青竜湯⁵⁾を除く 19 種類 134 品目について分析した結果、15 種類 116 品目について妨害ピークは認められず、残留するシペ

表 1 添加回収試験(EI 法)

漢方製剤	シペルメトリン		フェンバレーレート	
	回収率 (%)	相対標準 偏差(%)	回収率 (%)	相対標準 偏差(%)
当帰芍薬散	116.9	3.8	108.0	5.3
芍薬甘草湯	96.3	8.6	93.5	8.2
葛根湯	114.4	5.7	112.5	4.1
桂枝茯苓丸	96.5	14.8	93.5	6.0
八味地黄丸	99.3	7.6	102.9	13.0
十全大補湯	114.1	5.5	117.9	6.0
防風通聖散	112.9	7.0	111.5	4.2
柴朴湯	101.4	7.6	99.8	6.9
猪苓湯	114.2	7.7	117.5	4.5
釣藤散	104.1	11.6	94.2	6.5
温経湯	114.3	4.7	109.8	9.2

(n=3)

ルメトリン及びフェンバレーレートは検出限界(0.1 ppm)未満であることが確認できた。例として、芍薬甘草湯の EI 法によるクロマトグラムを示す(図 1-B)。残りの 4 種類 18 品目においては、いずれも $m/z=167$ のクロマトグラムのフェンバレーレートの保持時間付近に妨害ピークが認められた。4 種類 18 品目の内訳は、桂枝茯苓丸 8 品目、八味地黄丸 2 品目、十全大補湯 6 品目、温経湯 2 品目であった。例として、桂枝茯苓丸のクロマトグラムを示す(図 1-C)。

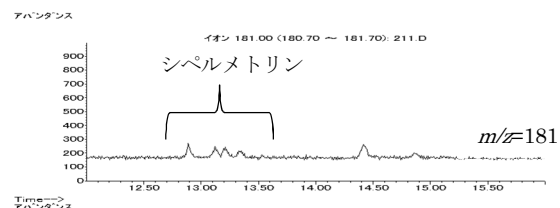
小青竜湯 7 品目も含め、EI 法で妨害ピークが認められた 5 種類の漢方製剤について、NCI 法での分析法としての妥当性を添加回収試験により検討を行った。方法及び

表 2 添加回収試験(NCI 法)

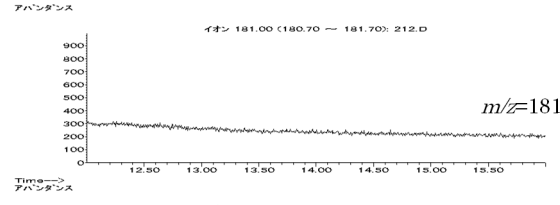
漢方製剤	シペルメトリン		フェンバレーレート	
	回収率 (%)	相対標準 偏差(%)	回収率 (%)	相対標準 偏差(%)
桂枝茯苓丸	93.9	7.4	86.2	10.4
八味地黄丸	87.4	8.1	90.3	7.4
十全大補湯	104.4	9.7	103.6	9.6
温経湯	115.3	9.2	111.1	11.3
小青竜湯	103.9	3.6	102.9	6.4

(n=3)

A



B



C

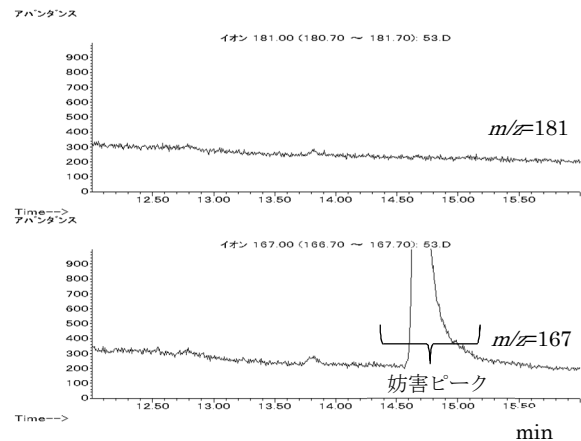


図 1 シペルメトリン及びフェンバレーレートのクロマトグラム(EI 法)

A: 混合標準溶液(0.01 ppm) B: 芍薬甘草湯

C: 桂枝茯苓丸

添加濃度は EI 法と同様である。結果として、回収率は 86.2 ~ 115.3%、RSD は 11.3% 以下(表 2)、妨害ピークは認められず、分析法として妥当であると判断した。5 種類 25 品目の漢方製剤について、NCI 法で再分析を行った結果、妨害ピークは認められず、残留するシペルメトリン及びフェンバレーレートは検出限界未満であることが確認できた。例として、桂枝茯苓丸の NCI 法によるクロマトグラ

ムを示す(図 2-b)。

今回の実態調査の結果より、対象とした 20 種類 141 品目の漢方製剤については、ピレスロイド系農薬による高濃度の汚染はなかったといえる。一般的に汎用性の高い EI 法を用いることで漢方製剤に残留するピレスロイド系農薬が分析可能であり、実態調査を行う時に有用であると考えられた。また、妨害ピークが認められる漢方製剤について汎用性は低いものの特異性に優れる NCI 法を用いることで分析可能な漢方製剤があり、EI 法を用いることができない際の代替法として有用ではないかと考えられた。今後も他の漢方製剤について残留するピレスロイド系農薬の実態調査を行う予定である。

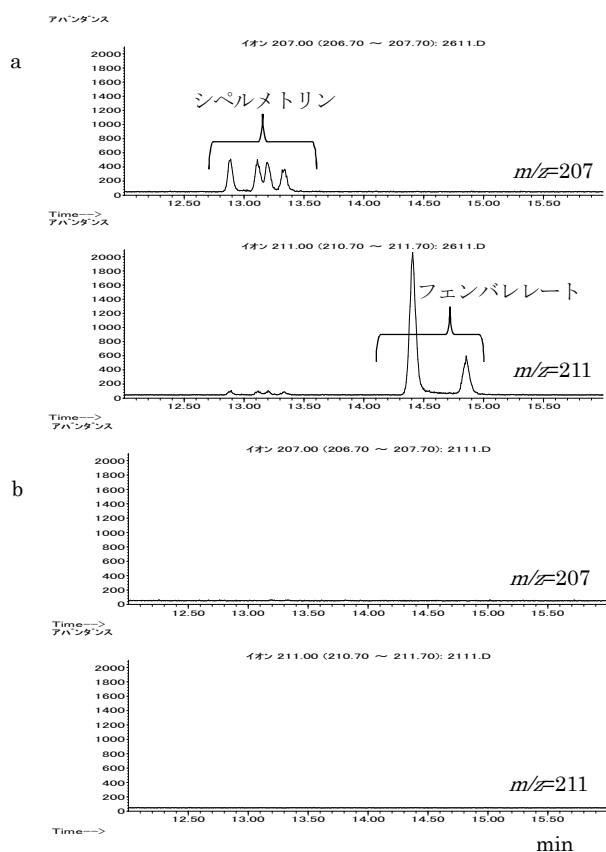


図 2 シベルメトリン及びフェンバレートのクロマトグラム (NCI 法)

a: 混合標準溶液 (0.01 ppm) b: 桂枝茯苓丸

結論

前報⁵⁾に加えて対象とする漢方製剤を拡大し、11 種類の漢方製剤に残留するピレスロイド系農薬が汎用性の高い EI 法で分析可能であることを確認した。EI 法及び NCI

法を用いて、20 種類 141 品目の漢方製剤のピレスロイド系農薬の分析を行ったところ、残留するピレスロイド系農薬は検出限界(0.1 ppm)未満であった。

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) 塩田寛子，浜野朋子，中嶋順一，下村壽一，末次大作，安田一郎：生薬及び煎出液に残存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)
- 3) 合田幸広ら：厚生労働科学特別研究事業「生薬中の農薬分析に関する研究」平成 15 年度総括・分担研究報告書(H15-特別-041)
- 4) 佐藤正幸，姉帯正樹，鎌倉浩之，合田幸広：生薬に含まれる有機リン系農薬の漢方処方煎液への移行，医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス，41，458-468(2010)
- 5) 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・迅速分析，大阪府立公衆衛生研究所所報，50，26-29(2012)
- 6) Takaomi Tagami, Keiji Kajimura, Katsuhiro Yamazaki, Yushiyuki Sawabe, Chie Nomura, Shuzo Taguchi, Hirotaka 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)
- 7) 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)