シンポジウム

多成分残留分析法に関する二、三の考察*

Helmut FREHSE**

宮本 純之***, 滝本 善之***訳

**国際純正応用化学連合農薬委員会委員長

***住友化学工業(株)農薬事業部研究部生物科学研究所

Some Thoughts Concerning Multiresidue Methods of Analysis*

Helmut FREHSE**

Translated by Junshi MIYAMOTO*** and Yoshiyuki TAKIMOTO***

**Chairman, Coordinating Committee of Pesticide Chemistry, IUPAC

***Research Department, Pesticides Division, Sumitomo Chemical Co., Ltd.,
Takarazuka, Hyogo 665, Japan

1. 多成分残留分析法の目的と特徴

宗像教授と宮本博士は私に対し当シンポジウムの目的のために多成分残留分析法の現況に関するいくつかの問題点と観点につき、要約することを依頼なさいました。この件に関しましては個人的な見解を超えてお話しできることはないと思われませんが、喜んで話題提供を致しましょう。作物中の農薬の多成分残留分析に関する理論的考察と方法のすぐれた要約は Burke と McMahon (1977) によりすでに発表されており、技法面については重要なことをそれにつけ加えてお話しするのはむずかしいことです。

残留分析にあたって多成分を同時に分析しようとする試みは、本来魅力的であり、当然でもあり、むしろ得心のゆくものであります。とくに食品の管理もしくは残留許容量の励行にかかわっている人が多成分残留分析法に考えを及ぼさないと信じていたいことです。そうだとすれば、かなりの数の多成分残留分析法があるにもかかわらず、なぜ、多くの分析者はある単一化合物のみのための方法、言いかえるならば多成分残留分析法以外の方法を未だに用いているのでしょうか。

その答の一つは、当然のことながらその目的にあります。

* 昭和 53 年 3 月日本農薬学会第 3 回大会シンポジウム“残留農薬のマルチアナリシス”における講演

す。ある方法、たとえば、新しい化合物を開発する際、農薬メーカーが考案した方法の目的は、作物、飼料や環境試料をモニターしたり、もしくはすでに設定された残留許容量(tolerance)を励行するために用いられる多成分残留分析法の狙いとは異なります。このことは誰でも知っていますが、目的におけるこの違いは、両者の方法の有用性と適応範囲にかなりの影響を与えることになるでしょう。この点について以下に簡単に述べてみましょう。

多くの場合、“非多成分残留分析法”では、ある決めた条件下で、ある特定の化合物の残留を測定できるだけであります。また、たとえば農薬メーカーから規制当局に提出する必要のあるためという単純な理由で、この方法によれば環境下での対象化合物の挙動を評価するために、できるだけ完全に、またかなり低い検出限界まで当該化合物の代謝産物もしくは分解物の量をも測定することが多分可能でしょう。この点において、このような分析法は非常に“感度の高い”ものでなくてはなりません。たとえ同時に“選択性が高い”ことはきわめて少ないとしても、けれども、これらの方法は“単純”です。なぜなら、これらは管理された実験から得られる試料の分析を目的としており、それゆえに他の化合物からの妨害、さらには未知の化合物からの妨害すら最小限に食い止められるからです。さらにこの場合無処理区の試料をも入手でき、多くの場合、結果の確認の必要があり

ません。これらは“個々の化合物用の (single)” もしくは“化合物に特異的 (compound-specific)” な方法と呼ばれるものです。[私としては、“化合物に合せた (compound-oriented)” 方法という表現をむしろりたい]。このような方法は、かつて残留データを作成した古い予備的な方法にある程度基づいており、その後、改良もしくは簡略化されたものと言えるでしょう。

これに対し、一般の分析者は、分析試料に関する農薬散布歴についての詳細な情報を持っていません。このため分析結果は、試料中に本来含まれる成分、もしくは外因性の他の化合物からのあらゆる種類の妨害にさらされているのが普通です。しかしながら、この場合には、分析者は (規制官庁によって要請されない限り) 痕跡量にまで分析を広げる必要がないことにより償われており、また法律に含まれている範囲内でのみ分解物を測定しなければならないだけであります。これが多成分残留分析法の関与する領域であります。

分析法を法律に適合させる際の問題については、10年以上前に Westlake と Gunther (1967) によりなされた提案を思いだしていただきたいと思います。彼らは、よくいろいろの組合せで用いられている3種のスクリーニング法を明確にしました。

1) 分離スクリーニング: 許容できる定量範囲と、対象1化合物 (農薬) を定め、残留許容量 (もしくは他の定まったパラメータ) を超過した試料とそれ以下のものとを分離する。

2) 成分スクリーニング: あらかじめ検出限界を定め、試料中の種々の対象化合物 (農薬) を検出する。

3) 定量的スクリーニング: あらかじめ検出限界と信頼性、再現性を定め、試料中に存在するいくつかの対象化合物 (農薬) の量を定量するか、または十分に確認する。

私の知る限り、とくにこれら、もしくは類似の基準に従って開発された多成分残留分析法についての報文は見当たりません。けれども、検出限界をたえず下げようとする“最近”の傾向から見て、測定に用いられる合理的な分析法なしに検出限界は定められないという事実に対し、繰り返し農薬登録官の注意を喚起しなければなりません。

2. 多成分残留分析法開発の現状と問題点

残留分析を行なう人はいずれも、文献に多くの多成分残留分析法があるという事実直面しています (その著者達を非難するつもりはまったくありませんが)。しかし、なぜそんなに多くの方法があるのでしょうか。もしそれらの内、いくつかが実際例外的に良い方法であるな

ら、なぜ新しい方法が開発されるのでしょうか。これにはいくつかの理由が考えられます。たとえば、

—自分自身の方法を開発するのはいいことだ。

—その研究所で手慣れた条件、(クリーンアップや *glc* 条件) を用いた方法を開発するのは便利である。

—言葉の障害は、外国で発表された方法を読んだり、それに気づくことの妨げになる。

—著者は知りえた分析法により、彼がとくに関心をもっているいくつかの作物-農薬の組合せ (の分析) を行ないえず、したがって、他の組合せで実験を行なった。(そして、多くの以前の分析法と同じく、彼のもまたその際入手しうる作物、農薬を用いた恣意的な、もしくは偶発的なものですらある)。

もちろん、これらすべてではないにしても、これらの内のいくつかの理由が“単一”分析法と同様“多成分”分析法の双方に関連しています。

すでに存在している多成分残留分析法が、必ずしも他の分析者に理解されたり、受入れられたりするとは限らないことから、本来は良いはずの方法のより広く知られるのが妨げられます。けれども、多くの分析者によって広く、実際的にその正しさが確かめられてはじめて、ある分析法は認知され、また、互いの経験の交換によって改良されることすらあります。個人的に言わせてもらえば、後になって同じくらい満足すべき結果になるとすれば、多くの場合、とてつもなく煩わしく、また、長時間を要する共同研究によるよりも、上に述べたような新しい方法を紹介し、これを検証するやり方のほうが良いと思われます。(Frehse 1975, Anonymous 1978 参照)。

それゆえ、すでに存在している種々の方法を比較し、可能な限りこれを組合せて、より少ない大規模な基本的操作法とすることを、なぜかつて誰も企てなかったのかと私は時々思います。この企ての最初は、おもに紙の上での試みでしょう。IUPACでは、設問形式法によって、多成分残留分析における精製操作および検出法 (または測定法) に関する情報を照合し、これらを組合せて最適な“一般的操作法”に到達する手段とすることを、すでに10年前に提案しました (Frehse 1970)。だが、明らかにわれわれは、このような試みの信奉者を見いだせませんでした*。

* したがって、のちに McMahon と Burke が、1978年に行なった発言に私は満足しております。彼らは、AOACの多成分残留分析に関する方法論の能力の良さに言及し、その各ステップにおける化合物の挙動に関する情報を増大させようとするFDA内の多くの努力を述べながら、方法と化合物の挙動に関するデータバンクの価値を、とりわけ強調いたし

大部分とは言わないとしても、多くの多成分残留分析法の大きな欠点は、方法自身の実際の可能性いかんよりもむしろ研究者とその追従者が、つぎ込んだ努力の量によってその適用範囲が限定されていることです。最初、当該分析法が、他のどのような化合物やどの試料に適用できるのかは、ほとんどわかっておりません。同様に、その方法が十分に適応できない化合物や試料についての情報が不足しがちであります。既存のいくつかの多成分残留分析法の適用範囲を組合せるか、もしくは確立された数少ない多成分残留分析法の可能性を発展させることは、単なる知的な試み以上のものと言うべきでしょう。実際そうすることは、残留モニタリングや残留データの評価への調和のとれたアプローチを国際的に促進します。また、そうすることにより、われわれのとる食品中の残留農薬に対して、今日みられるごとき広範な懸念に対する答えとして世界的に行なわれるべき total diet study はさらに促進されるでございましょう。分析法がより広く識別されるために恐らくわれわれは、試料、クリーンアップ操作や最後の測定操作を表記するための国際的に理解できる言語のコードを作り出すようにさらに努力すべきでしょう。

FAO と WHO により設立された CCPR (農薬残留食品規格委員会) は、現在 90 以上の農薬に対し、国際的な最大残留許容量 (Maximum residue limit, MRL) を勧告しております。数年前、同委員会は、分析法についての特別の作業グループを設けましたが、その目的は、CCPR が MRL を勧告している残留農薬と食品の組合せに、国際的に受入れられる適当な残留分析法を勧告することです。この作業グループが勧告している方法の大部分が、“その化合物特有の”方法であるのは興味深いことです。私からみれば、このことは、現存の多成分残留分析法が、現在用いられている範囲の農薬の主要なものに十分適合するほど幅広いものではないという明白な証左です。また、このことは、多成分残留分析法を開発する人々が、その方法が、通常直面すると思われる使途を十分に考慮していないということを明示しています。

ヨーロッパでは、せいぜいある国にとって重要な、もしくはある国にしかあてはまらない分析法以外はありませんし、

しかもそれらは公定法とはなっていません。1977 年英国で公表された 数種の有機リン農薬の果実および蔬菜における残留分析法に関する会議の報告、もしくはドイツ連邦共和国研究協会より公表されたいわゆる Becker 法 (1977) は、このような例でしょう。確かに多くの国の公的機関で使われている他の方法もありますが、それらは必ずしも容易に外部の人が知りえるものであるとは限りません。なお、また EEC がその加盟国の目的のために、分析法の勧告を、もしくは標準化するを計画していることをつけ加えておきましょう。米国では、すでに述べた公知の AOAC 法や FDA 法が広く使われています。しかし、AOAC 法は信頼すべきものではありませんが、化合物群に関する限りその範囲は非常に狭いもののように思われます。(多分、実際の使用例ではなく、少なくとも文献上では、McMahon と Burke 1978. 参照)、そして改訂版のよく出る FDA の分析手引書を米国以外の人々が見のがさないでいるのは容易なことではありません。

もしこのように分析法の開発が続くなら、過去にもあったように、また現在でも毎年何百もの単一化合物の分析法が報告されているように、ますます各個の多成分残留分析法の出現に直面するのでしょう。どの方法が好ましいかについて、一体誰が世界中の分析者に指示することができるのでしょうか。もしそのような指示がなく、またはあっても十分説得的でなければ、分析者が自分達の方法を開発し続けるとしても、驚くにはあたりません。ごくわずかの確実な多成分残留分析法を客観的に選別し、勧告し、採用したのちは、できるだけ多くの分析者によって、これをできるだけ多くの農薬・食品の組合せに適合させるようにしようとする目的をもった国際的な集りをなぜ召集しないのでしょうか。当然、すでに広い適用範囲をもっている方法は、この目的にかなうものです。このような方法が見つかり国際的に認知されれば、多分まだ個々の化合物の分析法を用いている分析者を、しだいに多成分残留分析法の使用へと変換させるでしょう。かくして、逆にその方法の有効性を明らかにし、その可能性を広げることとなるでしょう。先に述べた CCPR 特別作業グループによって毎年なされる勧告は、世界中の分析者からのより活発な反響をもっと必要としておりますが、この方向にそった第一段階のものなのです。

誤解のないようお願いしたいのですが、ここで私は、“標準化法”のようなものがないと言っているわけではありません。(ある分析法の良し悪しを決めるための共同研究は、分析法を吟味するに行なわれ、分析者を吟

ました。これは、彼らがその前年 (1977 年) に述べている見解にそったものであります。すなわち、彼らによれば、“種々の試料に適用できる抱括的な多成分残留分析を可能とする方法論を開発するためには、確かな分析法を選び、これに固執し、必要な研究をつけ加え、その可能性を発展させることが望ましい。その方法の正確さの確認や研究所内および研究所間での検証は、その後可能となる”。

味するものではないこと、すなわち、共同研究は熟練度の調査ではない (Anonymous 1978) という事実にかんがみ) 私はむしろ“標準化された分析者”が望ましいと申し上げたい。(おそらく議論の別れた場合を除き) 分析法の厳密な規定によって、分析者の専門知識や夢を制限しないようにする理由は多くあります。FAO/WHO の農薬についての合同会議 (FAO/WHO 1972), CCPR (FAO/WHO 1974) とわれわれ IUPAC (1974) では、すでに表明された学問的疑惑は別にして、標準法が必要とされる場合に、分析者がいかにして彼の義務を果たすべきかを述べた規制を発することによって、その場合における彼の義務をつけ加えるべきか否かについては、議論の余地があることを明確に述べています。(Frehse 1975, 参照)

3. 多成分残留分析法の基本的問題

最後に、多成分残留分析法に関連した四つの基本問題を簡単に述べてみたいと思います。

第1は回収率についてであります。これはもちろん、個々の農薬の分析法にも同様に関係があります。しかしながら、個々の分析法は、たとえば放射性物質を加えた古い試料を同じように抽出するというような追加実験で、はるかに実証されやすいとあえて申し上げたい。このようなことは、多成分残留分析法を作製する過程ではほとんどできないことであり、試料の抽出前、もしくは抽出中に、一定量の農薬を単に添加することによって回収率を、いいかえれば、当該分析法の有効性を調査すれば、“あまりに良すぎる”という誤った結果を導き出すことになるのは明らかであります。

これに関連して、代謝産物にも言及しなければなりません。残留の実質的な部分を分解物が占めている事実が明らかような農薬の分析法を作る際、それらの分解物に正当な注意を払わずに親化合物のみしか考慮されていないことがいかに多いかは時として驚くほどです。しかしながら、どの分解物が重要であるかを考えるにあたって、世界中の毒性関係者および規制当局間に共通のアプローチが必ずしも存在しないこともまた認めなければなりません。これは、消費者保護と調和させるにあたっての未解決の分野です。

第3はモニタリングから得られた結果の報告についてであります。分析した X 個の試料の内、 $Y\%$ が検出限界以下、 $Z\%$ が残留許容量以下、 $N\%$ があるレベルを超えているというような誤った統計がしばしば報告されています。これらの数字は、モニタリングに用いた分析方法や、その測定法を検討した農薬-食品の組合せにつ

いての適切な記載がなければ、むしろ意味のないものです。

最後の問題点は、とくに多成分残留分析における結果の確認の必要性に関するものです。分析法がより“完成された”ものとなるにつれ、その方法で得られた応答シグナルの同定や確認は、より困難となるでしょう。予見しうる将来にわたって、分析者が毎日の同定や定量のために、*glc* を用いることが続くでしょう。しかしながら、もしわれわれの方法が、終局的に、ますます多くの化合物を検出できるようになった場合、日常操作を基にして考えると、同じ保持時間を持つ半ダースもの予想化合物を最終的にいかにして区別できるのでしょうか。もちろん、この問題を扱うにあたっては、分析者の経験とともに、*tlc* や *GC/MS* があるのは事実です。けれども、試料の分析が一日のうちにできるか否かの設問に答えることこそ多成分残留分析の基本的な方針ではないのでしょうか。また、適切な同定法を開発し、多成分残留分析法とともに、公表することを習慣づける必要があると思われます。分析者に最初の分析法を知らせるのみで、その後の定性的、定量的同定の問題を、彼に委ねたままにしておくという考え方にはそんなに分があるとは思われません。

多分、われわれは次に述べる考察を基礎として、今までとは異なったタイプの多成分残留分析法の開発に努めなければなりません、すなわち、

- a) 化学的挙動の関連 (“小規模の多成分残留分析”, 誘導化を行なう場合と行なわない場合)
- b) クリーンアップと *glc* におけるクロマトグラフィックな関係
- c) 試料相互の関係 (たとえば農薬の使用パターン)
- d) 検出器の感度との関係

そして、これらの項目を互いに平行して用いなければなりません。a) のゆえに、同様に反応する化合物は多分、b) に従えば分けられるでしょうし、c) と d) を通じてその可能性を除去することにより、ある化合物間を他のものとり違える誤りは減少するでしょう。このような組合せ法は、おそらく通常のやり方よりもすぐれており、たとえば、クロマトグラフィーでの挙動や検出器に対する応答といった各グループ内における (化合物による) 変更を利用できるでしょう。もちろん、このようなやり方とて時間のかかることでしょう。けれども、ガスクロマトグラフを使っている人には、それを試みることはできると思います。

最後に、専門家の方々に、是非お答えいただきたい質問をいたしたいと思います。われわれは、大規模な多成

分残留分析法についての概念を断念すべきでしょうか。いいかえると、われわれは、すべてのものを注視すべく準備をととのえておく必要がいつもあるのでしょうか。警官は、交通安全のために車のチェックをする際、車の分解をしません。今週はライトを、来週はタイヤを調べます。当局が農薬の適正な使用法と法律の励行を確認するために、作物や食品をモニターするのが多成分残留分析の明白な目的であるならば、商品として移動したり貿易経路に入る食品について、今週は A 化合物、来週は B 化合物を調べるので十分ではないかと思うのです。これは簡単な化合物に合せた方法、もしくは小規模の多成分残留分析法を用いれば容易に行なえます。これがやっかいな多成分残留分析法とまったく同じ効果をもつかどうか、私にはつまびらかではありません。しかし、多分同じだろうと思います。

多成分残留分析という重要な課題について、いくつかの考えを述べる機会を私に与えてくださりましてありがとうございました。これらは、ここにお集りの多くの方々には、そう目新しいものではないでしょうが、私が要約したような状況は、地球の裏側でもそう異なっていないということを確認していただければ幸いです。ご静聴ありがとうございました。

引用文献

- Anonymous: *Proc. Analyt. Div. Chem. Soc.* **15**, 223 (1978)
J. A. Burke & B. McMahon: *FDA By-Lines* No. 4, January 1977, 207 (1977)
Deutsche Forschungsgemeinschaft: Verlag Chemie, Weinheim-New York, 4. Lieferung 1976, Methode S 8. (1977)
FAO/WHO: *FAO Agricultural Studies* No. 88, Rome; WHO techn. Rep. Ser. No. 502, Geneva. (1972)
FAO/WHO: Report of the Seventh Session of the Codex Committee on Pesticide Residues, The Hague, Netherlands, 4-9 February 1974. ALINORM 74/24, Appendix IV. (1974)
H. Frehse: *Pflanzenschutz-Nachr. Bayer* **23**, 196 (1974)
H. Frehse: *Pure Appl. Chem.* **42**, 17 (1975)
IUPAC Fed. Rep. of Germany: *Comptes Rendus XXVII Conference-Part B*, 306 (1974)
B. McMahon & J. A. Burke: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **61**, 640 (1978)
Anonymous: *Analyst* **102**, 858 (1977)
W. E. Westlake & F. A. Gunther: *Residue Rev.* **18**, 175 (1967)