

# ビフェノックスほか6農薬の一斉分析法への適応性の検討

山本敬男 望月恵美子

Application for Rapid and Simultaneous Determination Method on the Analysis of 7 Pesticides

Takao YAMAMOTO and Emiko MOCHIZUKI

平成15年4月1日現在, 食品衛生法第7条第1項の規定に基づき, 食品, 添加物等の規格基準<sup>1)</sup>には137種類の食品について229項目の農薬の基準値が定められている。当研究所ではこれまで県内産の農産物を中心とした, 食品中の残留農薬の分析を行政試験の一環として行ってきた。平成7年度には61項目であった試験項目数を順次増やして, 平成14年度には, 国産, 輸入あわせて101検体の農産物について128項目の農薬を一斉分析法により試験した。今後も, 新たに基準が設定される農薬は増える予定である。こうした状況に対応していくために, 第133次改正<sup>2)</sup>および第141次改正<sup>3)</sup>で順次追加された農薬のうちで, 現在用いている一斉分析法を適応出来るような7農薬を検討したので報告する。

## 方 法

### 1. 試 薬

標準試薬: ビフェノックス, キノメチオネートは和光純薬(株)製, フェンプロパトリン, シアナジン, ターバシル, テトラコナゾール, ブタクロールは関東化学(株)製を使用した。

有機溶媒: アセトン, 酢酸エチル, ヘキサン, ベンゼン, ジエチルエーテルは関東化学(株)製残留農薬試験用を使用した。

塩化ナトリウム: 和光純薬(株)製残留農薬試験用を使用した。

農薬標準原液: 農薬標準品約10mgを精秤し, アセトンで50mlに定容した。

農薬混合標準液: 各農薬標準原液をヘキサンの適宜希釈し, 表1に示した組み合わせと濃度で用いた。

ケイソウ土カラム: メルク社製エキストレルートNT 20カラムを使用した。

シリカゲルカラム: ウォーターズ社製セップバックプラスシリカゲルカートリッジを使用した。

フロリジルカラム: ウォーターズ社製セップバックプラスフロリジルカートリッジを使用した。

表1 農薬混合標準液の組み合わせと濃度

組み合わせ	農 薬 名	濃度 (μg/ml)
① 有機塩素系(1)	フェンプロパトリン	1.19
② 有機塩素系(2)	ビフェノックス	1.12
③ 含窒素系(1)	ターバシル	1.00
	シアナジン	1.15
	キノメチオネート	1.09
④ 含窒素系(2)	テトラコナゾール	1.00
	ブタクロール	1.18

### 2. 分析条件

有機塩素系農薬: 島津製作所(株)製ガスクロマトグラフ GC-14A ECD付を使用した。

含窒素系農薬: ヒューレットパッカード社製 HP 5890 II NPD付を使用した。

各々の分析カラム温度条件については表2に示した。

表2 ガスクロマトグラフの設定条件

ECD		NPD	
INITIAL TEMP	60 °C	INITIAL TEMP	50 °C
INITIAL TIME	2 min	INITIAL TIME	2 min
RATE	30 °C/min	RATE	15 °C/min
FINAL TEMP	180 °C	FINAL TEMP	150 °C
FINAL TIME	5 min	FINAL TIME	5 min
RATE A	4 °C/min	RATE A	8 °C/min
FINAL TEMP A	210 °C	FINAL TEMP A	230 °C
FINAL TIME A	0 min	FINAL TIME A	4 min
RATE B	1.5 °C/min	RATE B	10 °C/min
FINAL TEMP B	230 °C	FINAL TEMP B	270 °C
FINAL TIME B	0 min	FINAL TIME B	20 min
RATE C	20 °C/min	ON-COLUMN INJ TEMP	53 °C
FINAL TEMP C	260 °C	OVEN TRACK MODE ON	
FINAL TIME C	20 min	NPD TEMP	270 °C
RATE D	-40 °C/min	EPP B PRES	4 psi
FINAL TEMP D	60 °C	CONST FLOW MODE	<ON>
FINAL TIME D	5 min	COLUMN	DB-1 φ0.53mm×30m
INJ TEMP	200 °C		
DET TEMP	280 °C		
PURGE ON TIME	1.0 min		
PURGE OFF TIME	30.0 min		
COLUMN HEAD PRES	1.0 kg/cm <sup>2</sup>		
COLUMN	DB-1 φ0.25mm×30m		

### 3. 分析方法

残留農薬迅速分析法<sup>4)</sup>に準じた一斉分析法によった。以下にその概略を示す。

ホモジナイズした試料 30 g を共栓付三角フラスコに秤取り、アセトン 100 ml を加えて一晩放置した。吸引ろ過器を用いてろ過後、ロータリーエバポレーターでアセトンを留去した。残留溶液に塩化ナトリウム 6 g を加えて溶かした後、ケイソウ土カラムに負荷した。15 分間放置後、酢酸エチル 150 ml で溶出した。酢酸エチルを留去後、アセトン/ヘキサン (1:1) 3 ml に溶解後、シリカゲルカラムに負荷し、アセトン/ヘキサン (1:1) 20 ml で溶出した。濃縮後、ヘキサン 4 ml で定容し、このうちの 2 ml を含窒素系農薬分析用試料とした。残りの 2 ml は、そのままフロリジルカラムに負荷した。ついでヘキサン/ベンゼン (4:6) 20 ml, エーテル/ヘキサン (3:7) 20 ml で溶出したものを合わせ、溶媒を留去した。残渣をヘキサン 2 ml で定容とし、有機塩素系農薬の分析試料とした。

### 結果と考察

#### 1. 農薬混合標準液の分析

農薬混合標準液 4 種類をガスクロマトグラフに注入して、現行の分析条件下でのピークの確認を行った。結果を図 1～図 4 に示した。今回選択した 7 種類の農薬の全てが、現行の分析条件で分析できることが判明した。

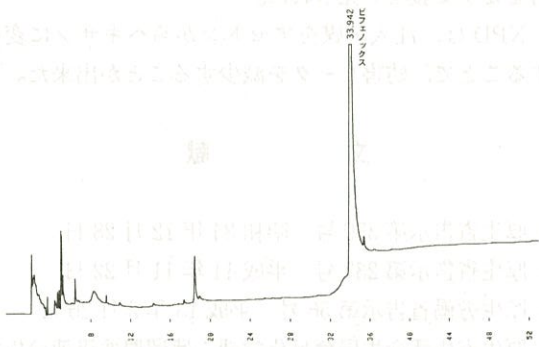


図 1 ビフェノックスのクロマトグラム

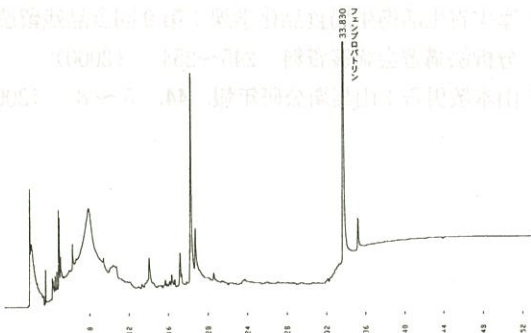


図 2 フェンプロパトリンのクロマトグラム

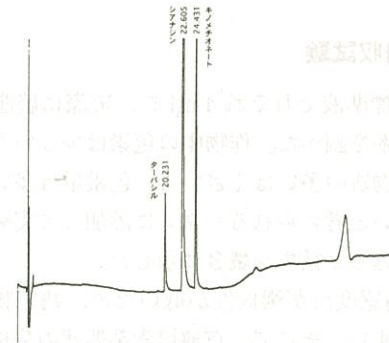


図 3 含窒素系農薬混合標準液(1)のクロマトグラム

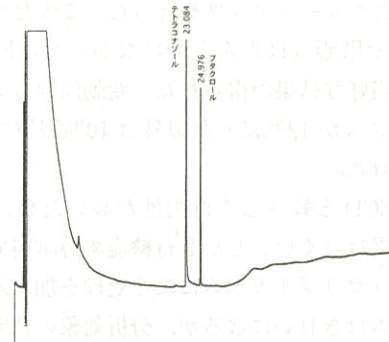


図 4 含窒素系農薬混合標準液(2)のクロマトグラム

#### 2. 標準液のみの回収試験

それぞれの農薬混合標準液のみ 4 ml をカラムに負荷して、現行の前処理法での回収率を検討した。3 回繰返した結果をまとめ表 3 に示した。

今回選択した農薬のうち、ビフェノックス、フェンプロパトリンは回収率が約 55% とあまり良好ではなかった。それ以外の農薬は 60～101% の回収率が得られ、変動係数もテトラコナゾールを除くとほぼ 10% 以内で良好な結果が得られた。変動係数が 31% と大きかったテトラコナゾールは、蒸気圧が 1.6 mPa (20°C)<sup>5)</sup> と高く揮散しやすいためばらつきが大きくなったものと考えられた。

表 3 回収試験の結果

(n=3)

農薬名	RT (min)	標準溶液のみ		はくさい		レタス	
		回収率	CV%	回収率	CV%	回収率	CV%
フェンプロパトリン	33.830	59.3	5.71	79.9	4.41	77.9	5.99
ビフェノックス	33.942	55.5	1.75	80.7	5.85	94.3	12.5
ターバシル	20.231	102	8.61	117	10.8	213	10.7
シアナジン	22.605	76.5	12.1	95.3	6.13	81.9	19.4
テトラコナゾール	23.084	64.2	31.1	87.0	4.60	116	9.41
キノメチオネート	24.431	79.8	3.32	102	2.88	65.2	3.21
ブタクロール	24.976	73.5	0.92	73.6	2.55	94.8	4.25

### 3. 添加回収試験

農薬混合標準液それぞれ4 mlを、実際に農産物に添加して回収率を調べた。作物中の色素は少ないものの、比較的妨害物質の多いはくさいと、色素量が多いが妨害物質は少ないと考えられるレタスに添加して実験を行った。3回繰返した結果を表3に示した。

ECDは高感度だが選択性が低いため、妨害物質の影響を受けやすい。そこで、有機塩素系農薬の分析を行う試料については、シリカゲルカラムに加えフロリジルカラムも用いたクリーンアップを行った。このため、妨害ピークによる影響はほとんど受けなかった。回収率も77~94%と良好な結果が得られた。変動係数もレタスのピフェノックスが12%だった以外は10%以下で良好な結果が得られた。

NPDはECDと較べると選択性が高いため、妨害物質の影響を受けにくい。しかし有機塩素系試料での前処理に用いたフロリジルカラムによる処理を加えると、クロマトグラムはきれいになるが、分析対象の含窒素系農薬の中にはカラムに吸着されて回収されないものも多かった。従って、NPDによる含窒素系農薬の分析には、シリカゲルカラム処理までの検体を用いざるを得なかった。その結果、クロマトグラム上に妨害ピークが多数現われた。妨害ピークが重なると、試料ブランクを差し引いても正確な定量は困難となり、回収率が100%を大きく超えた農薬が複数存在した。

テトラコナゾールについては、試料添加時の変動係数は10%以内に収まっていた。これは、試料中の夾雑物の影響により前処理時の揮散ロスが抑えられたため、ばらつきが小さくなったためではないかと考えられた。

一方、ターバシルはピーク高で定量すると添加回収実験で400~600%の回収率が得られてしまった。この原因は、標準品単独では分析カラムに吸着されやすいため、ピークがテーリングするのに対して、試料に添加した時は、夾雑物の影響を受けてピークがシャープになるためではないかと考えられた。従って、ピーク高ではなくピーク面積で定量した。その結果、添加回収実験で117%（はくさい）、213%（レタス）の回収率を得た。しかし、回収率の値としてはまだ高すぎる結果となった。残留農薬迅速分析法<sup>4)</sup>では、ケイソウ土カラムのあとにGPCを用いて処理を行い夾雑物を除去しているが、当所ではGPCを利用できないため、この農薬に関してはさらに

前処理条件および回収率の求め方についての検討が必要と考えられた。

ターバシルに限らず、今回検討した含窒素系農薬はブタクロールを除くとすべてこの傾向を持っていたため、残りの含窒素系農薬についてはピーク面積で定量を行った。

今回、NPDで分析する際、試料を溶かす溶媒が分析結果に影響する事が分かった。従来はNPDに注入する試料をアセトン溶液とした<sup>5)</sup>が、アセトン中に含まれる微量の水分の影響により、NPD分析時のベースラインの大きな変動、NPDコレクターの短寿命等の弊害が見られた。そこで今回、溶解液をヘキサンに変更したことにより、NPDクロマトグラムのベースラインの平滑化、妨害ピークの大幅な減少、NPDコレクターの長寿命化といった改善が見られた。公定法<sup>1)</sup>を参照して、各農薬のヘキサンへの溶解性に問題がない事を確認してからの変更であったが、いくつかの農薬では回収率の低下が見られた。

### ま と め

1. 今回検討した7農薬について、現在当所で用いているガスクロマトグラフ分析条件でスクリーニング分析が出来ることが判明した。
2. 7農薬の標準液のみ、あるいは試料に添加した状態での回収率は、概ね50~100%であり、スクリーニング検査の項目として追加できると考えられた。しかし、レタスの様な色素の多い検体に対しては、さらなる検討を要する農薬も見られた。
3. NPDは、注入溶媒をアセトンからヘキサンに変更することで、妨害ピークを減少することが出来た。

### 文 献

- 1) 厚生省告示第370号 昭和34年12月28日
- 2) 厚生省告示第237号 平成11年11月22日
- 3) 厚生労働省告示第56号 平成13年2月26日
- 4) 厚生省生活衛生局食品化学課：残留農薬迅速分析法の利用について 衛化第43号 平成9年4月8日
- 5) 厚生省生活衛生局食品化学課：第9回食品残留農薬分析法講習会講義資料 245~254 (2000)
- 6) 山本敬男ら：山梨衛公研年報, 44, 5~8 (2000)