

# EPTC ほか 27 農薬の一斉分析法への適応性の検討

山本 敬男 江頭 恭子 望月 恵美子

Application for Rapid and Simultaneous Determination  
Method on the Analysis of 28 Pesticides

Takao YAMAMOTO, Kyoko EGASHIRA, Emiko MOCHIZUKI

平成 12 年 4 月 1 日現在, 食品衛生法第 7 条, 食品又は添加物の基準及び規格には 135 種類の食品について 200 項目の農薬の基準値が定められている。今年度, 新たに 15 項目<sup>1)</sup>が追加された。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検査の一環として行ってきた。平成 12 年度では, 国産, 輸入合わせて 101 検体の農産物について 99 項目の農薬を, 一斉分析法を用いて分析を行った。今後も, 新しく基準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 127 次改正<sup>2)</sup>および第 133 次改正<sup>3)</sup>で新しく追加になった農薬を中心とした, 28 農薬の一斉分析法への適応性を検討したので報告する。

## 方 法

### 1. 試 薬

標準試薬: チオメトン, トリクロホスメチル, クロロフェナピル, トリフルラリン, フルバリネート, アラクロール, ウニコナゾール P, カフェンストロール, ピリプロキシフェン, ピリミジフェン, フェナリモル, ブチレート, フルジオキシニル, レナシルは和光純薬(株)製, ジメテナミド, ピリブチカルブ, メトラクロールは関東化学(株)製, EPTC, クレソキシムメチル, シハロホップブチル, ジフルフェニカン, チフルザミド, テブコナゾール, ビフェントリン, ピリミノバックメチル (E), ピリミノバックメチル (Z), ヘキサコナゾール, ペンコナゾール, ホルベットは林純薬(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 10 μg 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ール NT

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 有機リン系 (FPD)	チオメトン	0.90
	トリクロホスメチル	1.34
② 含窒素系 (ECD)	クロロフェナピル	0.10
	トリフルラリン	0.10
	ビフェントリン	0.62
	フルバリネート	0.35
	ホルベット	0.43
③ 含窒素系(1) (NPD)	EPTC	1.07
	ウニコナゾール P	1.06
	カフェンストロール	1.02
	ジフルフェニカン	2.22
	ジメテナミド	0.50
	チフルザミド	4.24
	ピリプロキシフェン	4.12
	ピリミジフェン	2.02
	ピリミノバックメチル (E)	1.01
	ピリミノバックメチル (Z)	1.01
	フェナリモル	1.39
	ブチレート	1.10
	フルジオキシニル	4.44
ペンコナゾール	1.05	
メトラクロール	1.48	
③ 含窒素系(2) (NPD)	アラクロール	1.03
	クレソキシムメチル	4.16
	シハロホップブチル	4.16
	テブコナゾール	4.24
	ピリブチカルブ	1.21
	ヘキサコナゾール	1.03
	レナシル	4.04

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パ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パックプラスフロリジルカートリッジを使用した。

### 2. 分析条件

有機リン系農薬: 島津製作所(株)製ガスクロマトグラフ GC-14A FPD 付を使用した。

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 HP5890 II NPD 付を使用した。

各々の昇温条件, 分析カラムについては表 2 に示した。

表1 農薬混合標準液の組み合わせと濃度

F P D		E C D		N P D	
INITIAL TEMP	60°C	INITIAL TEMP	60°C	INITIAL TEMP	50°C
INITIAL TIME	2min	INITIAL TIME	2min	INITIAL TIME	2min
RATE	20°C/min	RATE	30°C/min	RATE	15°C/min
FINAL TEMP	190°C	FINAL TEMP	180°C	FINAL TEMP	150°C
FINAL TIME	0min	FINAL TIME	5min	FINAL TIME	5min
RATE A	3°C/min	RATE A	4°C/min	RATE A	8°C/min
FINAL TEMP A	240°C	FINAL TEMP A	210°C	FINAL TEMP A	230°C
FINAL TIME A	0min	FINAL TIME A	0min	FINAL TIME A	4min
RATE B	20°C/min	RATE B	1.5°C/min	RATE B	10°C/min
FINAL TEMP B	270°C	FINAL TEMP B	230°C	FINAL TEMP B	270°C
FINAL TIME B	20min	FINAL TIME B	0min	FINAL TIME B	20min
RATE C	-25°C/min	RATE C	20°C/min	ON-COLUMN INJ TEMP	53°C
FINAL TEMP C	60°C	FINAL TEMP C	260°C	OVEN TRACK MODE ON	
FINAL TIME C	3min	FINAL TIME C	20min	NPD TEMP	270°C
INJ TEMP	270°C	RATE D	-40°C/min	EPP B PRES	4psi
DET TEMP	270°C	FINAL TEMP D	60°C	CONST FLOW MODE <ON>	
PURGE ON TIME	2.0min	FINAL TIME D	5min	COLUMN : DB-1	φ 0.53mm×30m
PURGE OFF TIME	45.0min	INJ TEMP	200°C		
COLUMN HEAD PRES	1.0kg/cm <sup>2</sup>	DET TEMP	280°C		
COLUMN : DB-17	φ 0.25mm×30m	PURGE ON TIME	1.0min		
		PURGE OFF TIME	30.0min		
		COLUMN HEAD PRES	1.0kg/cm <sup>2</sup>		
		COLUMN : DB-1	φ 0.25mm×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 30g を共栓付三角フラスコに秤取り、アセトン 100ml 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。残留物に塩化ナトリウム 6g を加えて溶かした後、ケイソウ土カラムに注入した。15 分間放置後、酢酸エチル 150ml で溶出した。酢酸エチルを留去後、アセトン/ヘキサン (1:1) 3ml でシリカゲルカラムに移し、アセトン/ヘキサン (1:1) 20ml で溶出した。濃縮後、アセトン 4ml で定容し、このうちの 2ml を有機リン系農薬及び含窒素系農薬分析用試料とした。残りの 2ml はアセトンを留去後、ヘキサン 3ml でフロリジルカラムに移した。ついでヘキサン/ベンゼン (4:6) 20ml、エーテル/ヘキサン (3:7) 20ml で溶出し、溶媒を留去した。残査をヘキサン 2ml で定容し、有機塩素系農薬の分析試料とした。

### 結果と考察

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、現行の分析条件でピークが現われるか確認を行った。結果を図 1 ~ 図 4 に示した。今回選択した農薬の全てが、現行の分析条件で分析できることが判明した。

#### (カラムのみの回収試験)

それぞれの農薬混合標準液のみ 4ml をカラムに負荷

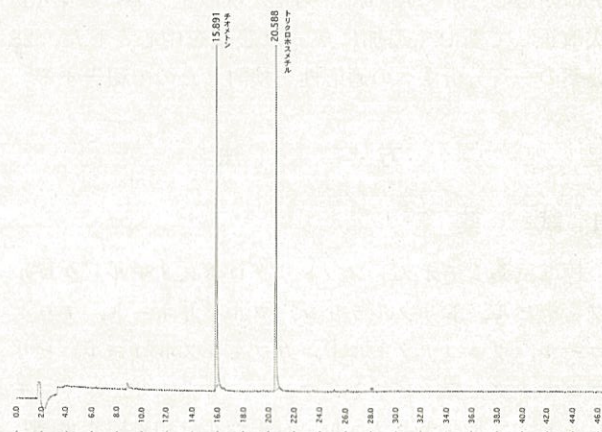


図1 有機リン系農薬混合標準液のクロマトグラム

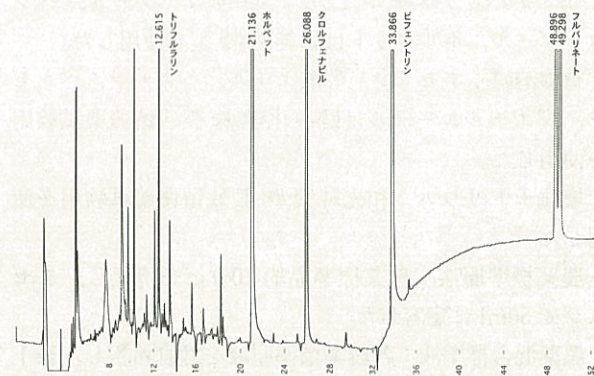


図2 有機塩素系農薬混合標準液のクロマトグラム

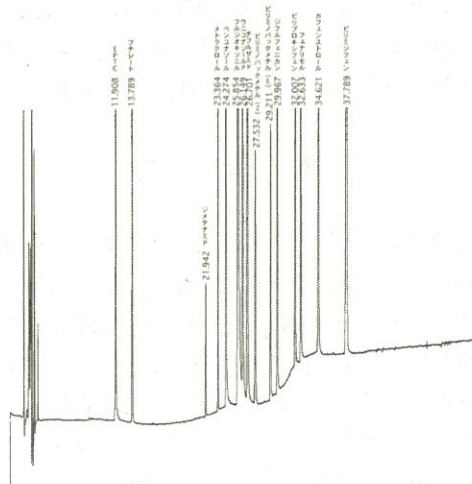


図3 含窒素系農薬混合標準液(1)のクロマトグラム

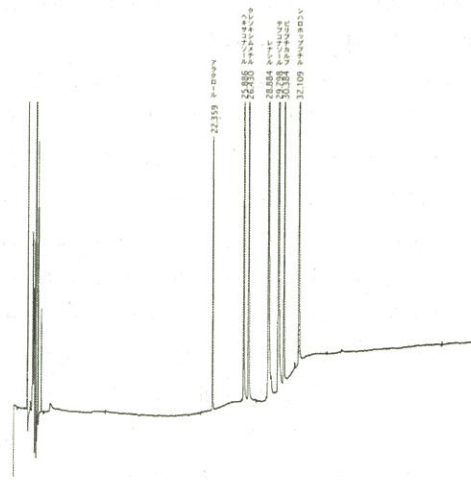


図4 含窒素系農薬混合標準液(2)のクロマトグラム

表3 回収試験の結果

(n=3)

農薬名	RT (min)	カラムのみ		はくさい		レタス	
		回収率	CV%	回収率	CV%	回収率	CV%
チオメトン	15.89	37.73	5.14	51.07	10.05	45.87	9.51
トリクロホスメチル	20.59	81.15	4.67	84.02	6.54	85.95	7.46
トリフルラリン	12.61	39.73	15.62	75.89	1.91	81.81	4.53
ホルベット	21.14	42.00	11.71	53.84	7.55	66.83	1.14
クロルフェナピル	26.09	65.11	5.97	61.35	5.87	64.07	1.93
ピフェントリン	33.87	61.86	6.42	60.98	8.89	87.49	4.65
フルバリネート	48.90	64.06	12.17	64.95	18.54	47.41	12.63
	49.30						
EPTC	11.91	1.56	6.14	85.28	13.02	67.25	8.29
ブチレート	13.79	0.00	—	56.16	11.34	58.42	7.49
ジメテナミド	21.94	86.55	3.50	357.71	15.42	118.81	15.84
アラクロール	22.36	72.22	12.09	657.41	6.88	40.97	44.22
メトラクロール	23.36	83.91	3.95	73.72	17.53	106.58	15.43
ペンコナゾール	24.27	80.71	6.06	111.51	4.52	142.38	6.81
フルジオキシニル	25.85	72.35	2.57	102.63	12.10	194.69	19.13
ヘキサコナゾール	25.89	71.68	8.82	93.01	3.44	154.77	17.24
ユニコナゾールP	26.15	79.40	4.51	72.30	6.99	98.98	7.95
クレソキシムメチル	26.43	67.31	7.36	85.03	2.72	124.95	4.96
チフルザミド	26.70	75.39	3.65	104.49	8.03	112.25	7.75
ピリミノバックメチル (Z)	27.53	82.85	2.94	101.89	9.43	90.58	8.23
レナシル	28.88	73.52	5.84	99.84	14.35	104.66	14.00
ピリミノバックメチル (E)	29.21	80.94	3.85	87.58	16.07	98.17	16.22
テブコナゾール	29.80	81.78	8.63	129.42	7.37	86.34	5.76
ジフルフェニカン	29.97	72.18	4.36	112.60	15.24	96.81	19.36
ピリブチカルブ	30.38	13.16	8.92	68.68	15.63	99.47	17.66
ピリプロキシフェン	32.01	55.10	3.97	129.28	16.26	150.59	13.63
シハロホップブチル	32.11	68.46	3.87	138.77	10.68	171.45	14.08
フェナリモル	32.63	80.90	2.55	97.56	19.13	111.81	17.55
カフェンストール	34.62	78.97	5.55	146.38	10.88	167.98	19.23
ピリミジフェン	37.79	71.00	2.03	92.62	7.78	93.87	6.81

して、現行の前処理法で回収可能かを検討した(表3)。

今回選択した農薬のうち、EPTC、ブチレートはほとんど回収されず、ピリブチカルブの回収率も非常に悪かった。チオメトン、トリフルラリン、ホルベットは回収率が約40%とあまり良好ではなかった。それ以外の農薬は60~80%の回収率が得られ、また変動係数もフルバリネート、アラクロールを除くと10%以内で良好な結果が得られた。

#### (添加回収試験)

農薬混合標準液それぞれ4ml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。結果を表3に示した。

妨害物質の影響を受けにくいFPDで分析を行った、チオメトンとトリクロホスメチルは、妨害ピークによる

影響は受けなかった。しかし、チオメトンは回収率が50%前後と余り良好ではなかった。

ECDは妨害物質の影響を受けやすいため、ECDで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でも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。回収率もレタスのフルバリネートを除き、60~80%と比較的良好であった。変動係数もフルバリネート以外は10%以下で良好な結果が得られた。フルバリネートは、高沸点で気化しにくい<sup>5)</sup>ため変動が大きくなるものと考えられた。

NPDはFPDよりも選択性が低いため、妨害物質の影響を受けやすい。分析試料としては、FPDで分析するものと同じなので、チャート上に妨害ピークが多数現われる。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るため、回収率が100%を大きく超えた農薬が複数存在した。しかし、試料に添加せず、標準溶液のみをカラムに負荷した時の回収率は、EPTC、ブチレート、ピリプロキシフェンを除き60~80%と良好な回収率が得られ、変動計数もアラクロールを除き10%以下となった。また、EPTC、ブチレート、ピリプロキシフェンの3農薬は試料に添加したときは、妨害ピークの影響をそれほど受けず、約60%程度の回収率が得られた。

EPTC、ブチレートは低沸点<sup>6,7)</sup>であるので、濃縮時に乾固すると揮散しやすい。標準溶液のみでは乾固しやすく、揮散したためほとんど回収されなかったと考えられた。ピリプロキシフェンは公定法では、フロリジルカラムに負荷して、アセトン/ヘキサン(3:7)で溶出する条件になっている<sup>8)</sup>。アセトン/ヘキサン(1:1)では溶出されない<sup>9)</sup>。しかし、本法ではフロリジルよりも吸着力の弱いシリカゲルカラムを用いているため、アセトン/ヘキサン(1:1)でも溶出されるが、完全ではないと考えられた。いずれの場合も、試料に添加した状態では、試料中の成分によって揮散が抑えられたり、カラムから溶出されやすくなったため、回収されたと考えられ

た。いずれにせよ、現在の前処理法では、NPDで分析する試料のクリーンアップが十分とは言えず、クリーンアップ条件のさらなる検討が必要と考えられた。

## ま と め

1. 今回検討した28農薬について、現在当所で用いているGC分析条件で分析できることが判明した。
2. 28農薬の標準溶液のみ、あるいは試料に添加した状態での回収率は概ね50~90%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。
3. NPDで分析する試料については、現行法では妨害ピークが多数出現するため、クリーンアップの条件等をさらに検討する必要があると考えられた。

## 引 用 文 献

- 1) 厚生労働省告示第56号 平成13年2月26日
- 2) 厚生省告示第245号 平成10年10月12日
- 3) 厚生省告示第237号 平成11年11月22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) 上杉康彦, 上路正子, 腰岡政二：第3版最新農薬データブック 196, ソフトサイエンス社(1997)
- 6) 厚生省生活衛生局食品化学課：第6回食品残留農薬分析法講習会講義資料 195~206 (1997)
- 7) 厚生省生活衛生局食品化学課：第6回食品残留農薬分析法講習会講義資料 17~23 (1997)
- 8) 食品衛生法 食品、添加物等の規格基準第一食品D 2 穀類, 豆類, 果実, 野菜, 種実類, 茶及びホップの成分規格の試験法 (16)アラクロール等試験法
- 9) 厚生省生活衛生局食品化学課：第6回食品残留農薬分析法講習会講義資料 135~155 (1997)