

アセトニトリル抽出、ミニカラム精製を用いた 食品中の残留農薬分析について

小木 圭子・森 富男・平井 敏之・飯田 英侃

Determination of Pesticides by using Acetonitrile Extraction and Mini-column Cleanup
in Agricultural Products

Keiko KOGI, Tomio MORI, Toshiyuki HIRAI, Hidetada IIDA

1 はじめに

近年、残留基準をこえた中国産冷凍野菜や無登録農薬問題など農薬に関連した事件が多発し、農産物の安全性についての関心が高まって来ている。平成15年には農薬取締法の改正や食品衛生法の改正などが行われ、食品中の残留農薬基準設定農薬数は今後ますますの増加が見込まれている。

当センターでも残留農薬迅速分析法¹⁾を基に残留農薬の分析を行ってきているが、この方法では前処理工程が複雑で、分析機器も複数の機器を使用するために分析時間だけでなくデータ処理にも時間と手間がかかっているのが現状である。前処理法については複数のミニカラムを組み合わせて使用した方法^{2), 3)}が報告されているが、佐藤ら⁴⁾はアセトニトリル抽出後C18、ENVI-Carb/LC-NH₂ミニカラムを用いた方法を報告している。今回著者らは、作業の迅速化と簡略化を目的としてアセトニトリル抽出ミニカラム精製(C18、ENVI-Carb/LC-NH₂)法で前処理し、GCとHPLCで分析する検査法の導入を検討したのでその概要について報告する。

2 材料および方法

2.1 試薬

残留農薬の標準品については和光純薬工業(株)製標準品を用いて、アセトンで標準原液100mg/mlを作成した。 α -CVP、 β -CVP、チオメトンについては10 μ g/ml溶液を希釈し、標準原液を混合し1 μ g/mlの混合標準液を作成した。N-メチルカーバメイト系農薬についてはメタノールで100 μ g/mlの標準原液を作成し、0.5 μ g/mlの混合標準液を作成した。混合標準液は分析機器ごとに各種農薬の保持時間が重ならないように有機リン系(2系列、34農薬)、有機塩素ピレスロイド系(2系列、22農薬)、含窒素系(2系列、33農薬)、N-メチルカーバメイト系(1系列、8農薬)の7系列を作成した。

2.2 添加回収試験

平成15年に収去検査された農産物(白菜、だいこん、じゃ

がいも、かぼちゃから各グループ2~3種類)について混合標準液を試料として0.1~0.2 μ g/gとなるよう添加し添加回収試験を行った。

2.3 試験液の調整

試料20gにアセトニトリル100mlを加えてホモジナイズし、塩化ナトリウム10gを加えてさらにホモジナイズした。2000rpmで約20分間遠心後、上清をC18ミニカラムに通過させ、最初の3mlを捨てて25mlを採取した。無水硫酸ナトリウム2.5gで脱水後正確に20mlを取り減圧濃縮した。残渣をN₂気流下で乾固し、アセトニトリル:トルエン(3:1)2mlに溶解し、ENVI-Carb/LC-NH₂ミニカラムに付加した。これをアセトニトリル:トルエン(3:1)20mlで溶出させ、溶出液を減圧濃縮した。残渣をN₂気流下で乾固しアセトン:ヘキサン(1:1)2mlに溶解し、試験液とした。

2.4 装置および測定条件

(1) GC/FPDとGC/NPD

GC/FPD: HP社製5890、カラム: DB-5 (0.25mm i.d. \times 30m 0.25 μ m)、カラムヘッド圧: 12psi、カラム温度: 50 $^{\circ}$ C (1min) \rightarrow 20 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 150 $^{\circ}$ C \rightarrow 5 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 280 $^{\circ}$ C、注入口温度: 250 $^{\circ}$ C、検出器温度: 250 $^{\circ}$ C、高圧注入 initial press: 24psi (0.5min) \rightarrow 12psi、スプリットレス パージタイム: 1min、キャリアガス: He、メイクアップガス: N₂、注入量: 1 μ l

(2) GC/ECD

GC/ECD: HP社製6890、カラム: HP-5 (0.32mm i.d. \times 30m 0.25 μ m)、カラムヘッド圧: 12psi、カラム温度: 50 $^{\circ}$ C (1min) \rightarrow 20 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 150 $^{\circ}$ C \rightarrow 5 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 280 $^{\circ}$ C、検出器温度: 250 $^{\circ}$ C、スプリットレス 注入口温度: 250 $^{\circ}$ C、パージタイム: 1min、キャリアガス: He、メイクアップガス: N₂、注入量: 1 μ l

(3) 蛍光検出器付ポストカラムHPLCシステム(島津LC10)、カラム: STR-ODS II (4.6mm I.D. \times 150mm)、カラム温度: 50 $^{\circ}$ C、移動相: 10%メタノールと90%メタノールのグラジェント、流速: 0.8ml/min、加水分解液: 0.05mmol/l、水酸化ナトリウム溶液、発蛍光液: 0.25mmol/l、オルトフタルアルデヒド及び0.25mmol/lの2-メルカプトプロピオン酸を含む120mmol/lホウ酸緩衝液、加水分解液及び発

蛍光液流速：0.4mℓ /min、反応槽温度：100℃、蛍光検出器（励起波長：340nm、蛍光波長：445nm、注入量：10μℓ）

精製が必要な農薬もあったが、従来の前処理法に比べ簡便で時間短縮もできることから、今後スクリーニング法の前処理法としての活用が有用であると考えられる。

4 結果および考察

有機リン系農薬の結果は表1のとおりである。有機リン系農薬では34種類中31種農薬で70%以上の回収率が得られた。回収率が低かったのはDDVP、アセフェート、チオメトンで32.3%、62.4%、64.7%であった。DDVPは揮発性が高いためと考えられるので、濃縮時の揮散防止で回収率が改善できると考えられる。アセフェートについては極性が高いため回収率が低下し、チオメトンについては酸化されやすいためと考えられる。バミドチオンについても変化しやすいため回収率にばらつきが大きかったと考えられる⁵⁾。

N-メチルカーバメイト系農薬の結果は表2のとおりである。3種の農産物に添加したが、オキサミルについては妨害成分の影響が見られた。妨害成分の除去のため、LC-WCXミニカラムで処理を行ったが、オキサミルは検出できなかった。都立衛研小林ら⁶⁾はグラファイトカーボン・PSA・SAXの組み合わせが有効であったと報告しているため、今後2種のミニカラムだけでなく追加精製の必要性が考えられる。アルジカルブ、メチオカルブ、エチオフェンカルブについては作物中で分解することが知られている⁵⁾。今回はかぼちゃでアルジカルブが66.1%、エチオフェンカルブが7.9%と回収率が低かった。それ以外の農薬については70%以上の回収率が得られた。

含窒素系農薬の結果は表3のとおりである。含窒素系農薬33種類中32種類で70%以上の回収率が得られた。メトリブジンが24.7~68.9%と低い回収率であった。メトリブジンについては脱アミノ体に分解されたためと考えられる⁵⁾。2農産物ともに120%を超えた農薬はイプロジオン、クロプロファミン、メフェナセットの3種類あった。

塩素系及びピレスロイド系農薬については表4のとおりである。検査した22種農薬中2農産物とも回収率が70%以下であったのはPP'-DDD、PP'-DDTの2種類であった。また回収率が120%を超えていたのはペルメトリンとPP-DDEであった。

4 まとめ

農産物からアセトニトリル抽出後2種類のミニカラム(C18とENVI-Carb/LC-NH₂)で前処理して、87農薬についてGC、HPLCで分析検討を行った結果、87種中78種で70%以上の回収率が得られた。グラファイトカーボンのミニカラムはGPC処理では不十分であったクロロフィルなどの色素除去に非常に有効であった。複数の農作物で回収率120%を超えた農薬は6種類で、CV値が20%を超えた農薬は8種類あった。一部農産物では妨害物質除去のために追加

参 考 文 献

- 1) 厚生省生活衛生局食品化学課長通知：残留農薬迅速分析法の利用について，衛化第43号，854~856，(1997)
- 2) 秋山由美他：固相抽出法を用いた農産物中残留農薬のGC/MSによる多成分一斉分析法，食衛誌，37，351~362 (1996)
- 3) 根元了他：GC/MS(SIM)による農作物中110農薬の一斉分析法，食衛誌，37，233~241，(2000)
- 4) 佐藤寛他：アセトニトリル抽出/ミニカラム精製を用いたGC/MS及びGCによる農作物中の有機りん系農薬の分析，東京都衛研年報，52，92~96 (2001)
- 5) 食品衛生検査指針 残留農薬編 社団法人日本食品衛生協会編(2003)
- 6) 小林他：農産物中のN-メチルカーバメイト系農薬およびその代謝物の一斉分析法，食衛誌，43，133~143 (2002)

表1 有機リン系農薬の添加回収率(%) N=2

	はくさい		じゃがいも	
	平均	cv%	平均	cv%
DDVP	32.3	40.2	65.4	1.9
メタトホス	80.5	1.7	73.1	5.9
アセフェート	62.4	2.9	67.7	16.0
エプロホス	98.2	7.6	101.5	6.3
チオメトン	64.7	6.2	59.3	3.5
ジメエート	99.9	1.1	105.6	1.0
テルブホス	72.7	23.0	89.8	2.4
ダイアジノン	91.0	0.5	94.1	6.8
エトリムホス	101.3	0.3	97.4	5.2
IBP	102.4	1.2	106.3	2.5
パラチオンメチル	98.9	8.2	103.1	5.0
トリクロホスメチル	98.8	2.0	97.5	1.3
クロルピリホスメチル	103.3	2.2	107.2	6.8
ピリミホスメチル	108.4	0.4	105.6	7.6
フェントロチオン	105.5	1.1	106.2	1.8
マラチオン	109.6	3.2	108.7	6.8
クロルピリホス	109.1	1.4	103.9	7.0
フェンチオン	96.9	2.6	96.1	0.8
パラチオン	104.1	2.1	103.1	2.1
ホスチアゼート	109.6	3.5	110.8	9.4
α-CVP	107.9	2.0	108.3	2.3
イソフェンホス	114.5	5.1	103.4	6.9
β-CVP	104.3	2.7	104.2	3.5
フェントエート	110.9	4.7	110.0	8.5
メチダチオン	100.0	8.9	115.2	11.2
パミチオン	97.4	12.0	131.0	24.9
ブタトホス	121.7	17.7	104.1	14.1
プロチオホス	85.4	8.2	101.8	3.2
エチオン	104.9	0.5	109.7	1.2
フェンスルホチン	129.2	4.1	137.8	21.0
エチフェンホス	105.4	5.0	112.8	1.1
ピリダフェンチオン	109.7	0.7	104.1	8.9
EPN	112.0	4.0	112.4	0.5
ホスメット	70.8	1.0	105.5	13.1
ホサロン	107.9	2.5	103.2	13.3

表2 N-メチルカーバメイト系農薬添加回収率(%) N=3

	かぼちゃ		白菜		だいこん	
	平均	cv%	平均	cv%	平均	cv%
オキサミル	97.2	9.0				
アルジカルブ	66.1	0.1	92.3	0.1	96.6	0.1
ベンダイオカルブ	96.8	0.1	95.2	0.1	94.6	0.1
カルバリル	98.0	0.1	100.9	0.1	102.8	0.1
エチオフェンカルブ	7.9	0.1	89.9	0.1	99.7	0.1
イソプロカルブ	94.5	0.1	86.1	0.1	95.0	0.1
フェノプロカルブ	95.8	0.1	91.3	0.1	200.4	0.1
メチオカルブ	93.1	0.1	102.4	0.1	120.8	0.1

表3 含窒素系農薬の添加回収率(%) N=2

	白菜		だいこん	
	平均	cv%	平均	cv%
トリブジン	68.9	0.1	24.7	0.1
チオベンカルブ	131.7	0.1	139.2	0.1
トラクロール	81.2	0.1	86.1	0.1
キノメチオネート	88.6	0.2	27.4	1.0
プレラクチオール	89.4	0.1	94.8	0.1
フルシラゾール	97.5	0.1	103.2	0.1
レナシル	106.3	0.1	112.2	0.1
テブコナゾール	94.9	0.1	106.3	0.1
イプロジオン	131.5	0.1	147.1	0.1
ピリダベン	88.9	0.1	86.1	0.1
ピリミジフェン	64.6	0.2	68.5	0.4
イミベンコナゾール	90.4	0.1	122.9	0.3
クロルフルファム	158.7	0.1	163.4	0.1
ジエトフェンカルブ	90.0	0.1	88.8	0.1
エスプロカルブ	116.5	0.1	116.5	0.1
ベンディメタリン	85.8	0.1	83.0	0.1
フルトラニル	97.0	0.1	98.1	0.1
マイクロタニル	69.7	0.6	94.6	0.1
メフロニル	118.2	0.1	125.3	0.3
プロピコナゾール	95.3	0.1	99.8	0.2
メフェナゼット	205.3	0.1	147.0	0.7
ピテルタニール	91.9	0.1	115.8	0.2
ジフェコナゾール	89.3	0.1	81.3	0.2

表4 有機塩素系及びピレスロイド系農薬の添加回収率(%) N=3

	白菜		だいこん	
	平均	cv%	平均	cv%
α-BHC	82.6	0.1	89.6	0.1
γ-BHC	72.0	0.1	82.3	0.1
ジクロロアノト	118.8	0.4	63.6	1.2
デルタリリン	79.4	0.4	114.2	0.3
エンドリリン	85.1	0.5	90.3	0.1
PP'-DDD	60.7	0.5	68.5	0.1
PP'-DDT	54.6	0.3	76.8	0.2
ジコホール	76.7	0.2	69.0	0.4
シハロリン	91.7	0.1	93.5	0.1
ペルメトリン	190.8	0.1	214.9	0.1
シペルメトリン	88.9	0.1	85.6	0.1
フェンハレート	87.3	0.5	84.0	0.1
デルタメトリン	70.5	0.5	59.7	0.1
β-BHC	95.7	0.1	99.3	0.1
δ-BHC	108.1	0.1	112.7	0.1
アルドリリン	83.4	0.1	86.9	0.1
PP'-DDE	121.8	0.1	132.1	0.1
クロルベンジレート	84.5	0.1	83.7	0.1
OP'-DDT	70.3	0.1	72.1	0.1
シフルトリリン	84.1	0.1	92.6	0.2
フルシトリネート	92.6	0.1	98.9	0.2
フルバリネート	84.7	0.1	89.8	0.2