

農薬の迅速分析法への適用性の検討 (第 I 報)

— 有機塩素系農薬 —

遠藤 幸男, 保坂 久義, 宮本 文夫, 佐伯 政信

Application of Rapid Determination of Pesticides (Part I)

— Organochlorine Pesticides —

Yukio ENDOU, Hisayoshi HOSAKA, Fumio MIYAMOTO
and Masanobu SAEKI

I はじめに

平成10年9月現在, 食品衛生法では, 162農薬について残留基準が設定されている。これらの農薬の検査には公定法が定められているが, 公定法を用いての分析では数多くの農薬の検査を行う上でかなりの時間を要し, また多くの人員も必要となる。

最近, 各研究機関または検査機関などから多成分同時分析法に関する検討がされており, 1994年に残留農薬簡易分析法開発検討委員会が発足し, 1995年に検討結果を示している¹⁾。その後, 1997年4月に水溶性農薬も含めた残留農薬迅速分析法 (以後, 迅速分析法) を示した²⁾³⁾。この分析法の取り扱いについては, 平成9年に厚生省生活衛生局長から通知されている⁴⁾。この迅速分析法は誘導体化せずにガスクロマトグラフおよび高速液体クロマトグラフで測定できる農薬を対象とし, 茶の浸出液を除く農作物に適用できるが, 必ず農薬と農作物の組み合わせ毎に各農薬の回収率およびその相対標準偏差を確認することとなっている。

今回著者らは, 10種類の農作物を用い, 127種類の農薬について迅速分析法に適用可能か, ガスクロマトグラフ質量分析計 (以下GC/MS) -SIM法を用いて検討を行った。本報において26種の有機塩素系農薬 (異性体を含む) および11種のピレスロイド系農薬についての結果を報告する。

II 実験方法

1. 農薬標準品

37農薬については表1-1~1-3に示した。

林純薬(株), 和光純薬(株)及び関東化学(株)製を用いた。

標準溶液は各農薬標準品の1000 μg/ml液を調製し, 分離可能な農薬を混合して各農薬濃度が1 μg/mlになるようアセトンで希釈調製した。

2. 試薬

酢酸エチル, シクロヘキサン, アセトン, エチルエーテル及びn-ヘキサンは残留農薬試験用, ケイソウ土カラムはケムエルトCE1020 (Varian社製, 容量20ml用), ミニカラムSep-pak-Plus (Waters社製) のシリカゲル (充填剤910mg) およびフロジル (充填剤690mg) を用いた。その他は特級試薬を用いた。

均一化した試料 20 g

— アセトン 100ml

ホモジナイズ 3分

吸引ろ過 (残査をアセトン50mlで洗う)

減圧濃縮 (40°C以下) し, 20ml以下にする。

— 塩化ナトリウム 6 g

ケイソウ土カラムに負荷後10分放置

— 酢酸エチル150mlで溶出

減圧濃縮 (40°C以下) し, 溶媒を除去

— 残査にシクロヘキサン/酢酸エチル (1 : 1) で10mlにする

GPCに5 mlを注入

減圧濃縮 (40°C以下) し, 溶媒を除去

残査にアセトン/ヘキサン (1 : 1) を加えて4 mlにする

シリカゲルミニカラムにこの2 mlを負荷

— アセトン/ヘキサン (1 : 1) 20mlで溶出

減圧濃縮 (40°C以下) し, 溶媒を除去

残査にエーテル/ヘキサン (3 : 17) を加えて4 mlにする

フロリジルミニカラムにこの2 mlを負荷

— 第1フラクション : エーテル/ヘキサン (3 : 17) 18mlで溶出

— 第2フラクション : アセトン/ヘキサン (3 : 17) 15mlで溶出

第1, 2フラクションでそれぞれ濃縮しアセトンで2 mlとする

3. 装置

GC/MS: QP-5000 (株島津製作所製), カラム: DB-5 MS, 0.25mmi. d. × 30M (J & W社製), ゲル浸透クロマトグラフィー (以下GPC): 日本分光製フラクションコネクター付, GPCカラム: Envirosep-ABC 2l. 2mmi. d. × 350mm, ガードカラム: Envirosep-ABC 2l. 2mmi. d. × 60mm, ホモジナイザー: ULUTRA-TORRX T-25

4. 操作条件

GPC; 移動相: 酢酸エチル/シクロヘキサン (1:1), 流量: 5 ml/min, 分取分画: 65~145ml

GC/MS; キャリヤーガス: ヘリウム, 流量: 0.8ml/min, 気化室温度: 250°C, インターフェース温度: 280°C, カラム昇温: 50°C (2 min) - 20°C/min - 150°C (1 min) - 5°C/min - 250°C (1 min) - 10°C/min - 300°C (6 min), 注入法: スプリッ

トレス, 定量条件: 内部標準法 (アントラセン d10, ビレン d10), SIM法

5. 試験操作

迅速分析法に従い, 有機塩素系及びピレスロイド系農薬分析を行った。概要を図1に示す。

農薬混合標準は各農薬のピークが重ならないように, 3つのグループに分けて測定した。GC/MS-SIM法での各農薬のリテンションタイム及び測定イオンを表1-1~1-3に示す。

6. 添加回収試験

千葉県内で流通している玄米, レモン, バナナ, かぶ, はくさい, かんしょ, きゅうり, レタス, トマト, ビーマンの10種類の農作物で検討農薬が不検出のものを用いた。

各農作物について1.0 µg/gとなるように混合標準溶液を加えた。それぞれの農作物に対し, 3試行で行った。

表1-1 混合-1のGC/MS-SIM法でのリテンションタイム及び測定イオン

農薬名	R. T	M/Z	農薬名	R. T	M/Z
ビレン (IS-1)	16.7	188	オキサジアゾン	24.0	175, 177
アントラセン (IS-2)	22.8	212	エンドリン	24.6	67, 263
α-BHC	15.1	181, 219	OP'-DDT	25.4	235, 237
CNA	15.5	124, 206, 176	カプタホール	27.3	79
γ-BHC	16.0	181, 219	アクリナトリン	31.0	181, 208
TPN	17.3	266, 264	ベルメトリン	31.8	183, 163
アルドリン	20.1	66, 263, 101	シベルメトリン	33.1	163, 181

表1-2 混合-2のGC/MS-SIM法でのリテンションタイム及び測定イオン

農薬名	R. T	M/Z	農薬名	R. T	M/Z
ビレン (IS-1)	16.7	188	クロロベンジレート	25.0	139, 251
アントラセン (IS-2)	22.8	212	PP'-DDD	25.3	235, 237
ヘキサクロルベンゼン	15.4	284, 286	PP'-DDT	26.6	235, 237
β-BHC	16.1	181, 219	シフルトリン	32.7	163, 165
δ-BHC	17.1	181, 219	フルシトリネート	33.4	199, 157
ピンクロゾリン	18.6	212, 285	フルバリネート	34.7	250
キャプタン	21.8	79	トラロメトリン	35.5	181, 253
ディルドリン	23.8	79, 263, 277			

表1-3 混合-3のGC/MS-SIM法でのリテンションタイム及び測定イオン

農薬名	R. T	M/Z	農薬名	R. T	M/Z
ビレン (IS-1)	16.7	188	PP'-DDE	23.8	246, 318
アントラセン (IS-2)	22.8	212	β-ベンゾエピン	24.9	195, 159
テフルトリン	17.4	177, 197	CNP	26.1	317, 319
ヘプタクロル	18.9	100, 272	シハロトリン	30.6	181, 197
ジコホール	20.5	139, 250	ハルフェンプロックス	33.2	263, 265
ヘプタクロルエポキシド	21.6	353, 355	フェンバレレート	34.4	125, 167
α-ベンゾエピン	22.3	195, 241	デルタメトリン	35.4	181, 253

III 結果及び考察

1. GC/MS-SIM法での各農薬標準について

GC/MS-SIM法での検討対象農薬は, 完全に分離し, 定性および定量の再現性も良好であった。

2. 各操作での検討対象農薬についての回収率

各操作での検討対象農薬の回収率を表2に示す。

なお, 回収試験に用いた各操作での検討対象農薬濃度は1.0 µg/mlで行った。

1) ケイソウ土カラムの回収率

迅速分析法に沿い、塩化ナトリウムを加えた状態で、ケイソウ土カラムに負荷すると、上部のところで目詰まりを起こし、流速が極端に遅くなる (終了まで6時間程度)。そのためグラスウールをケイソウ土カラム上部に詰め、尚かつ下部に注射針を付けることで流速を2ml/min程度に調整した。

この結果、72.6~111.6%の良好な回収率を得た。

2) GPCの回収率

迅速分析法の解説に¹⁾に従い、フルバリネートとキノメチオネートの溶出間について行った。今回の条件では、脂肪分との分離は良好であったが、色素との分離は悪かった。

フルバリネートは61.8%と低かった。120%以上の回収率を示すものが14種類あった。その他の農薬は77.4~119.9%の良好な

回収率であった。

3) シリカゲルミニカラムの回収率

CNA, エンドリン, カプタホール, ヘキサクロルベンゼンが70%以下であった。その他の農薬については77.1~120.2%の良好な回収率であった。

4) フロリジルミニカラムの回収率

カプタホール, キャプタン, β -ベンゾエピンは第1フラクションのエーテル/n-ヘキサン (3:17) と第2フラクションのアセトン/n-ヘキサン (3:17) にまたがって溶出した。その他は第1フラクションで溶出した。カプタホール, ハルフェンプロックス, シベルメトリン及びベルメトリンが70%以下であったが、その他の農薬は70.7~102.2%の良好な回収率であった。

表2 有機塩素系及びピレスロイド系農薬標準を用いた各カラムからの回収率

農 薬 名	ケイソウ土カラム	GPC	シリカゲル	フロリジル-1**	フロリジル-2***
CNA	103.6	110.6	62.7	70.7	—
CNP	106.2	147.5	115.2	90.0	—
op'-DDT	92.0	122.9	93.1	72.0	—
pp'-DDD	101.2	118.4	90.2	93.2	—
pp'-DDE	100.1	120.6	90.8	102.2	—
pp'-DDT	101.8	122.6	94.9	90.2	—
TPN	91.2	103.1	85.6	77.1	9.2
アルドリン	76.8	119.9	97.5	83.8	—
エンドリン	112.1	115.0	53.3	74.2	—
オキサジアゾン	93.4	132.5	91.0	86.7	—
カプタホール	100.7	77.4	64.5	21.1	31.5
キャプタン	77.0	110.0	93.6	9.0	83.4
クロロベンジレート	104.8	132.2	96.8	92.8	—
ジコホール	90.1	128.6	87.5	74.4	—
ディルドリン	97.9	122.8	86.7	96.9	—
ハルフェンプロックス	95.2	97.9	113.6	62.0	—
ピンクロゾリン	94.1	134.2	86.1	98.6	—
ヘキサクロルベンゼン	72.6	88.4	58.9	83.4	—
ヘプタクロル	82.6	121.2	86.4	94.6	—
ヘプタクロルエポキシド	92.8	114.5	77.4	82.4	—
α -BHC	76.1	134.9	95.2	81.7	—
β -BHC	93.7	126.5	86.2	94.7	—
γ -BHC	82.5	139.4	91.0	85.6	—
δ -BHC	91.0	122.5	82.0	98.9	—
α -ベンゾエピン	93.6	91.0	100.1	97.3	—
β -ベンゾエピン	92.6	82.7	103.1	18.3	73.6
アクリナトリン*	111.2	103.2	77.1	83.7	—
シハロトリン*	111.7	90.5	116.4	89.4	—
シフルトリン*	109.1	86.8	109.6	87.4	—
シベルメトリン*	105.7	89.6	100.5	65.4	—
テフルトリン*	106.1	111.3	80.5	95.3	—
デルタメトリン*	111.7	81.2	120.2	80.7	—
トラロメトリン*	106.7	102.5	96.3	94.3	—
フェンバレレート*	111.0	85.5	118.9	71.8	—
フルシトリネート*	101.7	77.4	96.5	100.8	—
フルバリネート*	100.0	61.8	95.0	101.8	—
ベルメトリン*	110.7	83.3	105.1	69.6	—

*はピレスロイド系農薬

**はフロリジルミニカラムの第1フラクション

***はフロリジルミニカラムの第2フラクション

3. 添加回収試験

10種農作物からの塩素系農薬及びピレスロイド系農薬37種の添加回収結果及び変動係数を表3-1~3-2に示した。

農作物別にみると、レモンで大部分の農薬が50%前後という回収率であった。レモンはpH調整せずに抽出したこと、各操作行程での濃縮後の残渣を溶媒で溶解する際に、不溶な成分が多く残るためではないかと推測される。かぶは約半数の農薬でやや低い回収率であった。特にピレスロイド系農薬の回収率が低かった。ピーマンは11種の農薬で70%以下の回収率となった。トマトについては回収率が70%以下の農薬が9種あるが、逆にピレスロイド系農薬では回収率が120%を越えるものが4種類あった。バナナでは

5種類のピレスロイド系農薬が120%を越える回収率であった。

その他の農作物においてはほとんどが良好な回収率を示した。

農薬別にみると、TPN はきゅうりが良好であるが、はくさいでは2倍以上の回収率を示し、他の農作物で回収率が50%以下であった。ヘキサクロルベンゼンは玄米、バナナ、かんしょ以外では70%以下の回収率であった。β-ベンゾエピンはきゅうり、レタス、ピーマン以外は39.3~69.8%の回収率であった。カプタホールは、はくさい、きゅうり、レタスで良好であった。その他の農作物で回収率が9.7~63.8%であった。ピーマンにおいては、3試行の内1検体の回収率が0%のため変動係数が大きくなった。

その他の農薬においては、概ね良好な回収率を示した。

表3-1 有機塩素系及びピレスロイド系の農作物からの回収率 (平均%及びCV%)

(n=3)

農作物 農薬名	玄米		レモン		バナナ		かぶ		はくさい	
	平均	CV	平均	CV	平均	CV	平均	CV	平均	CV
CNA	91.1	4.4	36.5	13.9	99.3	4.4	103.4	4.7	90.3	8.1
CNP	100.4	5.5	65.7	12.7	96.6	3.8	77.6	11.7	97.8	11.0
op'-DDT	94.1	1.3	60.4	3.6	78.6	9.0	94.9	7.7	94.7	10.7
pp'-DDD	86.9	2.3	54.5	16.9	101.7	12.3	67.7	1.1	86.7	4.8
pp'-DDE	98.0	6.4	71.7	4.9	102.7	4.6	68.3	20.2	96.7	6.1
pp'-DDT	107.7	1.5	60.1	22.6	85.7	11.7	47.4	10.3	87.3	5.6
TPN	0.0	-	28.8	31.4	20.8	74.2	0.0	-	232.6	4.3
アルドリン	88.9	4.1	50.5	5.6	92.3	4.8	88.9	6.6	81.9	9.9
エンドリン	96.7	2.3	81.8	19.4	72.2	5.0	97.5	23.2	93.6	1.6
オキサジアゾン	101.2	3.7	50.8	8.9	101.7	2.2	100.8	2.8	99.8	6.4
カプタホール	34.5	10.8	30.4	99.8	55.8	22.6	9.7	32.6	94.0	13.5
キャプタン	90.2	1.7	94.4	4.9	103.2	12.0	12.3	173.2	99.3	5.7
クロロベンジレート	91.7	3.9	37.4	25.8	95.2	15.3	72.8	1.2	70.0	5.0
ジコホール	277.8	8.9	57.6	59.7	98.6	4.3	71.9	15.0	95.2	4.6
デイルドリン	92.1	5.8	51.6	20.6	99.3	13.9	72.5	3.0	87.6	5.8
ハルフェンプロックス	93.8	2.3	71.1	10.8	100.0	4.5	53.0	38.1	100.3	7.2
ピンクロゾリン	96.3	3.3	48.4	23.4	87.5	13.6	79.0	5.8	89.5	3.1
ヘキサクロルベンゼン	82.4	0.4	51.2	16.4	72.6	16.7	56.1	7.6	65.3	5.6
ヘプタクロル	96.4	5.7	65.7	14.2	97.2	2.6	57.9	40.9	88.0	2.1
ヘプタクルエボキシド	90.9	8.3	57.0	31.0	99.2	2.5	79.4	16.5	98.2	9.1
α-BHC	88.3	3.2	44.9	6.4	88.9	0.6	91.3	7.1	84.0	9.3
β-BHC	95.5	2.4	51.4	21.7	88.9	12.6	77.7	3.5	86.7	3.9
γ-BHC	96.5	2.5	44.4	16.2	95.0	2.7	98.8	4.9	90.1	7.7
δ-BHC	75.9	13.0	50.6	21.9	91.2	15.8	99.0	4.1	89.1	2.6
α-ベンゾエピン	84.6	9.7	50.3	31.4	87.6	21.9	72.3	5.2	93.1	9.4
β-ベンゾエピン	69.8	9.6	69.8	17.3	42.6	19.8	54.1	18.0	49.1	4.9
アクリナトリン*	105.5	3.4	42.0	4.6	122.2	6.0	99.5	4.2	101.0	7.3
シハロトリン*	91.7	0.4	58.5	16.6	100.2	1.5	69.8	27.5	103.5	1.5
シフルトリン*	93.9	3.3	48.0	12.8	131.7	16.2	65.9	3.9	110.1	5.1
シベルメトリン*	99.4	3.0	43.7	6.7	117.2	1.1	123.6	7.2	111.0	13.0
テフルトリン*	92.0	2.7	68.3	13.0	99.6	3.7	60.5	30.1	91.3	3.7
デルタメトリン*	120.9	4.8	58.0	32.7	102.1	2.1	63.0	26.3	92.4	9.6
トラロメトリン*	90.2	4.6	51.6	8.9	160.2	17.9	68.1	4.6	100.4	7.6
フェンバレレート*	92.9	1.2	64.1	20.9	98.5	2.9	67.6	25.6	105.4	3.9
フルシトリネート*	92.6	2.4	49.2	25.8	152.3	19.4	66.1	6.5	109.0	4.0
フルバリネート*	93.9	1.5	52.2	14.8	149.3	18.9	66.2	10.0	108.1	5.5
ベルメトリン*	106.4	2.2	47.8	9.6	112.2	0.4	117.3	7.0	107.8	11.5

*はピレスロイド系農薬

表3-2 有機塩素系及びピレスロイド系の農作物からの回収率(平均%及びCV%)

(n=3)

農薬名	農作物		かんしょ		きゅうり		レタス		トマト		ピーマン	
	平均	CV	平均	CV	平均	CV	平均	CV	平均	CV	平均	CV
CNA	82.5	1.8	81.0	7.8	80.0	4.2	80.3	3.4	70.4	10.3		
CNP	92.8	5.1	101.5	15.8	86.2	2.1	89.0	6.0	89.4	7.3		
op'-DDT	84.9	3.7	83.7	12.2	86.1	11.5	64.4	2.2	79.4	14.2		
pp'-DDD	92.8	4.0	92.6	1.3	86.1	7.7	97.0	13.8	76.8	3.7		
pp'-DDE	95.8	1.5	105.8	12.2	91.3	8.4	84.7	6.1	93.4	1.7		
pp'-DDT	89.7	3.9	80.3	6.2	81.4	6.5	115.9	6.8	66.9	13.0		
TPN	26.2	59.8	84.1	13.0	47.1	4.2	3.7	173.2	31.8	13.4		
アルドリン	84.6	3.3	80.3	7.7	77.2	7.2	69.2	8.0	69.4	8.2		
エンドリン	85.9	4.3	85.7	14.1	78.1	4.4	84.1	3.1	65.6	14.5		
オキサジアゾン	89.7	2.5	92.4	6.6	87.1	3.8	91.0	2.8	87.5	9.9		
カプタホール	63.8	9.4	95.6	11.8	114.3	4.1	46.7	18.2	79.4	86.7		
キャプタン	0.0	—	96.1	16.9	101.1	19.0	55.4	72.0	84.1	23.2		
クロロベンジレート	89.4	3.8	85.0	1.4	81.5	8.3	107.9	13.6	68.4	3.7		
ジコホール	99.7	1.6	189.7	46.7	88.2	3.2	69.6	30.6	0.0	—		
ディルドリン	92.8	3.2	91.8	2.4	81.6	8.4	98.6	13.3	80.5	3.1		
ハルフェンプロックス	100.4	2.9	101.9	14.8	92.1	6.8	88.1	2.6	91.1	6.7		
ピンクロソリン	90.0	2.4	88.2	2.7	79.1	6.9	87.4	18.4	76.8	2.3		
ヘキサクロルベンゼン	76.3	11.1	49.2	8.9	36.9	11.0	47.8	27.9	54.0	10.4		
ヘプタクル	89.1	3.8	86.9	28.5	66.0	27.1	66.8	2.7	75.9	3.5		
ヘプタクロルエポキシド	103.5	2.3	108.2	17.9	75.9	5.2	80.4	11.2	79.9	2.9		
α-BHC	80.7	1.7	76.2	8.0	74.3	7.5	58.7	16.1	66.8	9.3		
β-BHC	90.4	1.5	86.6	4.5	79.9	6.5	87.9	19.2	76.1	4.0		
γ-BHC	88.0	2.9	88.4	7.2	92.0	4.7	87.2	0.7	80.4	10.4		
δ-BHC	87.6	5.3	87.6	4.5	80.4	6.8	89.4	13.7	75.7	5.3		
α-ベンゾエピン	83.8	2.5	99.7	25.5	81.8	16.7	79.2	26.2	76.5	13.8		
β-ベンゾエピン	52.7	20.6	100.2	14.7	88.5	7.1	39.3	30.6	95.5	5.0		
アクリナトリン*	76.8	4.7	83.1	3.3	81.4	8.7	84.5	4.5	67.6	10.5		
シハロトリン*	93.8	6.4	103.2	13.9	89.1	4.2	88.5	3.6	90.3	7.0		
シフルトリン*	95.5	7.4	86.0	6.6	83.9	12.8	134.3	10.3	72.9	10.9		
シベルメトリン*	99.6	4.0	93.2	5.4	93.7	8.9	93.6	3.5	79.5	10.6		
テフルトリン*	99.1	3.0	96.4	17.7	75.8	10.8	77.7	5.2	86.5	1.6		
デルタメトリン*	97.1	3.6	101.5	15.6	89.8	3.3	96.5	3.3	91.8	8.1		
トラロメトリン*	96.0	15.5	94.7	11.4	84.7	15.4	143.5	13.5	76.3	3.5		
フェンバレレート*	94.7	2.2	97.7	13.8	93.3	4.8	92.0	1.8	87.7	8.4		
フルシトリネート*	98.0	8.7	98.4	0.5	87.0	10.5	151.2	7.8	68.8	4.2		
フルバリネート*	96.7	9.2	89.0	0.6	85.5	8.6	139.9	10.3	68.9	1.9		
ベルメトリン*	96.5	3.9	93.9	4.2	99.2	7.1	93.0	3.8	79.4	11.0		

*はピレスロイド系農薬

IV まとめ

今回の結果から、各操作行程における回収率については、ほぼ満足の行く結果であった。農作物への添加回収試験から農薬と農作物との組み合わせによっては迅速分析法で行った結果については、定量値の確実性に欠ける事があると思われる。しかし、検査の時間短縮という点から定性スクリーニング検査としては有用であることがわかった。

今後、この迅速分析法を改良することにより定量結果の確実性を高めることが課題である。また、更なる迅速化のためにはGC/MSで残留基準設定農薬の検出限界濃度を定量する事が検討課題である。

V 文献

- 1) 残留農薬簡易分析法開発検討委員会(1995): 残留農薬多成分分析法の開発について, 食品衛生研究, Vol145, No.9
- 2) 残留農薬迅速分析法開発検討委員会(1997): 残留農薬迅速分析法の解説(1), 食品衛生研究, Vol147, No.5
- 3) 残留農薬迅速分析法開発検討委員会(1997): 残留農薬迅速分析法の解説(2), 食品衛生研究, Vol147, No.6
- 4) 厚生省生活衛生局長(1997): 衛化第43号残留農薬迅速分析法の利用について