

GC - ECD, HPLC による農産物中の残留農薬の多成分分析法

泉 喜子*¹ 新田 祐子 山本 浩二*² 大瀧 勝*³ 松原 洋

Simultaneous Determination of Pesticides in Agricultural Products by GC-ECD and HPLC

Yoshiko IZUMI*¹, Yuko NITTA, Kouji YAMAMOTO*²,
Masaru OOTAKI*³, Hiroshi MATSUBARA

Simultaneous determination of pyrethroid and some other pesticides in agricultural products by GC-ECD and HPLC was studied.

The pesticides were extracted from samples using acetone, and re-extracted into n-hexane, then cleaned up by using Sep-Pak Florisil cartridge. The pesticides were eluted from the cartridge with 15% ether-n-hexane (E/H), and 15% acetone-n-hexane (A/H). The eluates were concentrated to dryness, and the residue obtained was dissolved in n-hexane or acetonitrile. The pesticides were determined with GC-ECD or HPLC.

The pesticides and their metabolites spiked in samples gave satisfactory recoveries except for triflumizole and its metabolite.

Keywords: pesticides, GC-ECD, HPLC, agricultural products, Sep-Pak Florisil cartridge

はじめに

当所では、県内産農産物の残留農薬調査(行政試験)を行っており、平成 12 年度は 26 農産物 30 検体について 40 農薬(累計 400 農薬)の検査を実施した。平成 11 年の食品規格一部改正¹⁾で告示法以外の方法を残留農薬試験に使用することが認められたため、各検査機関では多成分同時分析法の検討が行われている。当所でも HPLC で分析を行う 3 農薬(イプロジオン, フェンピロキシメート, エトフェンプロックス)について一斉分析の検討²⁾を行い、また、GC - ECD で分析を行う有機塩素系農薬, ピレスロイド系農薬については、平成 11 年度から一斉分析を行ってきた。

そこで今回、有機塩素系農薬の分析法³⁾を応用し、行政試験を行う農薬のうち、ピレスロイド系農薬と HPLC で分析を行うイプロジオン(代謝物も含む)、フェンピロキシメート(E 体および Z 体)、クロルフルアズロン、エトフェンプロックス、トリフルミゾール(代謝物も含む)について同時抽出法の検討を行い、残留農薬分析の効率化を試みたので報告する。

愛媛県立衛生環境研究所 松山市三番町 8 丁目 234 番地

* 1 現 宇和島中央保健所

* 2 現 環境政策課

* 3 現 松山中央保健所

方 法

1. 試 料

県内産の農産物 30 検体を用いた。

2. 試 薬

農薬標準品：農薬標準品は和光純薬工業(株)、林純薬工業(株)製等を用いた。

有機溶媒等：n-ヘキサン、アセトン、ジエチルエーテル、無水硫酸ナトリウムは残留農薬試験用を、アセトニトリルは高速液体クロマトグラフ用(いずれも和光純薬工業(株)製)を使用した。

フロリジルミニカラム：Sep-Pak plus フロリジル(Waters 社製)を使用した。

3. 装置及び測定条件

1) 高速液体クロマトグラフ (HPLC)

(株)日立製作所社製

①ポンプ：L-7100, カラムオープン：L-7300

UV-VIS検出器：L-7400

データ処理装置：D-2500

カラム：TSK-GEL ODS-80Ts

(内径4.6mm×長さ150mm)

移動相：アセトニトリル-水 (75:25)

流 速：0.8ml/min, カラム温度：40°C

注入量：20 μl, 検出波長：230nm

- ②ポンプ：L-7100，カラムオープン：L-7300
 フォトダイオードアレイ検出器：L-7450
 データ処理装置：D-7000
 カラム：Inertsil ODS-3 V
 (内径4.6mm×長さ250mm)
 移動相：アセトニトリル-水(75：25)を初期濃度とし、12分間のリニアグラジェントを行いアセトニトリル100%とした後10分間保持
 流速：1.0ml/min，カラム温度：40°C
 注入量：20 μl，測定波長：200-300nm
 (トリフルミゾール分析時は、①，②の移動相をアセトニトリル-10mMKH₂PO₄系に変更し測定)

2) ガスクロマトグラフ (GC-ECD)

①島津8A

カラム：DB-1 (J&W社製)
 (内径0.53mm 膜厚1.5 μm 長さ15 m)
 検出器温度：270°C，注入口温度：270°C
 オープン温度：210°C
 キャリアガス(N₂)：0.5kg/m³ 注入量：2 μl

②日立G-5000

カラム：DB-5 (J&W社製)
 (内径0.25mm 膜厚0.25 μm 長さ30m)
 検出器温度：300°C 注入口温度：230°C
 注入量：2 μl (splitless)
 オープン：100°C(2min)-20°C/min-280°C(20min)
 キャリアガス(He)：1.0ml/min
 キャリア+メイクアップガス(N₂)：50ml/min
 (①，②はピレスロイド，イプロジオンの分析条件)

4. 分析操作法

穀類は粉碎し、10gに水20ml添加し2時間放置した。野菜、果実はミキサーで粉碎し20gを採取した。試料にアセトン100mlを加え30分間振とう抽出後ろ過し、残さにアセトン50mlを加えさらに30分間振とう抽出した。ろ紙上残さの洗浄はアセトン20mlで2回行った。ろ液を減圧濃縮し、濃縮液に10%塩化ナトリウム溶液100mlを加え、n-ヘキサン100ml，50mlを用いて転溶した。n-ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水後ろ過、減圧濃縮し、残さをn-ヘキサン5mlに溶解し抽出液とした。濃縮後油状物が残った場合は、アセトニトリル分配を行なった。抽出液2mlをSep-Pak plusフロリジルで

精製し、GC分析用はn-ヘキサンにHPLC分析用はアセトニトリルに溶解して試験溶液とした。

茶については、9gを100°Cの蒸留水540mlで5分間浸出し、ろ液300mlをとり、塩化ナトリウム40gを加え、n-ヘキサン100mlで2回抽出した。n-ヘキサン層について、野菜、果実等と同様に操作を行った。

結果及び考察

1. 抽出方法の検討

有機塩素系農薬の分析法により、ピレスロイド系農薬とHPLCで分析を行う5農薬について同時抽出を試みたところ、トリフルミゾールを除いて良好な回収率が得られた。トリフルミゾールは、農産物中の夾雑物やpH等の影響を受け同時抽出では安定した回収率が得られなかったものと思われた。とくにみかん、キウイ、いよかん等、粉碎後のpHが低い試料で回収率が低かったことから、アセトン抽出時、試料にリン酸緩衝液を加え中性付近に調整して分析を行ったところ良好に回収されたため、トリフルミゾールについては、分析操作法に抽出時、転溶時のpH調整を加え単分析を行うこととした。

2. 精製方法の検討

種々の農薬の精製に用いられるSep-Pak plusフロリジルを用いて検討を行った。ピレスロイド系農薬は、農薬により溶出画分が若干異なったが、概ね15%ジエチルエーテル-n-ヘキサン(E/H)15mlにより溶出した。同時抽出するイプロジオン等4農薬について、同カラムに2 μg負荷し、溶出溶媒として5%E/H，15%E/H，50%E/H，5%アセトン-n-ヘキサン(A/H)，15%A/Hを用いた溶出状況を表1に示した。エトフェンプロックスが5%E/H画分に溶出したため、カラムに抽出液を負荷した後15%E/H15mlでピレスロイド系農薬とエトフェンプロックスを溶出し、その後15%A/H15mlでその他の3農薬を溶出することとした。しかし、カラムのロットにより溶出位置が異なる例があり、分析に先立ち確認が必要と思われた。エトフェンプロックス、イプロジオンについてはGC分析試料を分取してHPLC分析に用いた。

トリフルミゾールは、試料抽出物を5%A/Hに溶解してカラムに負荷した後、5%A/H10mlで洗浄し、15%A/H10mlで溶出した。

表1 フロリジルミニカラムからの各農薬の溶出状況

	回 収 率 (%)				
	5%E/H	15%E/H	50%E/H	5%A/H	15%A/H
イプロジオン	0	0	26.8	40.4	24.0
イプロジオン代謝物	0	0	69.2	25.3	0
クロルフルアズロン	0	0	74.5	0	0
フェンピロキシメートE体	0	0	95.6	0	0
フェンピロキシメートZ体	0	0	93.2	0	0
エトフェンプロックス	94.3	0	0	0	0

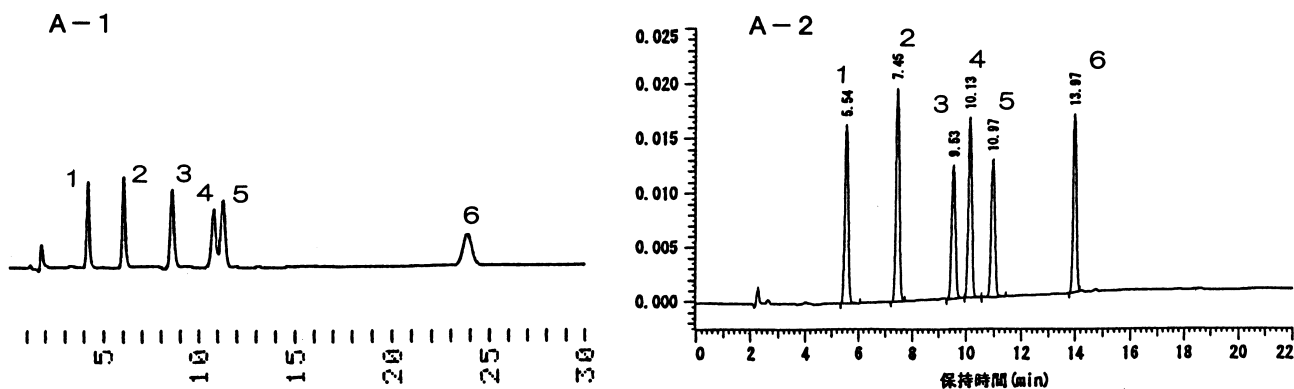


図1 HPLCクロマトグラム

A-1 標準溶液(0.8ppm) A-2 標準溶液(4ppm)グラジエント

1 イプロジオン 2 イプロジオン代謝物 3 フェニロキシメトZ体
4 クロルフルアズロン 5 フェニロキシメトE体 6 エトフェンプロックス

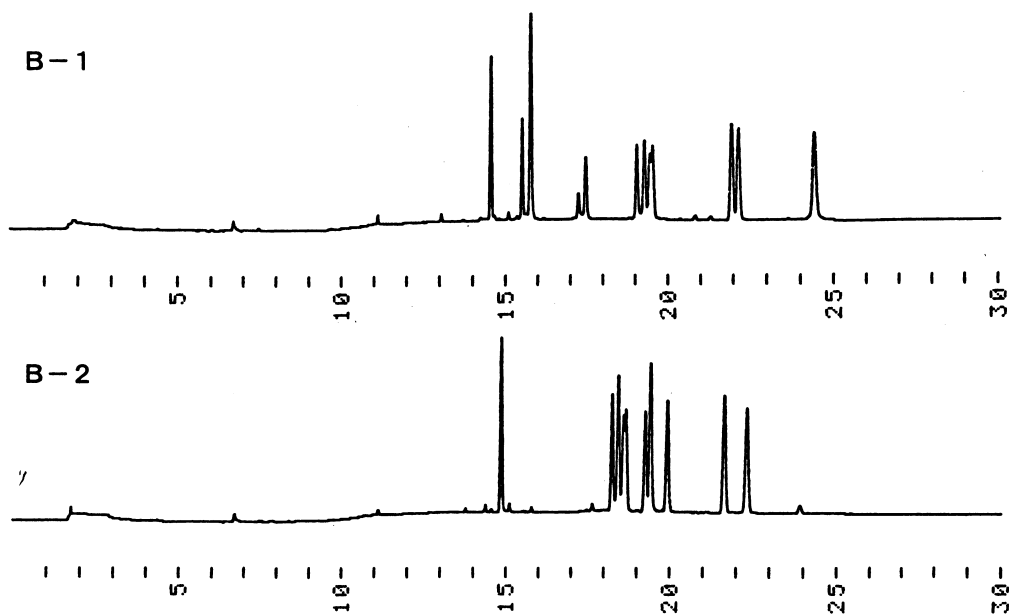


図2 GC-ECD系農薬のクロマトグラム (各0.4ppm)

B-1 ビフェントリン, シハロリン, ペルメトリン, シペルメトリン, フルバリネート, トラロメトリン

B-2 フェンプロバトリン, シフルトリン, ハルフェンプロックス, フルシトリネート, フェンバレート

3. HPLC測定条件の検討

イプロジオン等4農薬は、ODS系のカラムを用い、アセトニトリル：水(75：25)の移動相で良好な分離が得られた。試料によっては、注入後かなり時間を経過してから試料由来のピークが見られたため、グラジエント条件の検討を行ったところ、今回の測定条件において良好な分離が得られた。クロマトグラムを図1に示した。また、トリフルミゾールは、アセトニトリル：水系の移動相ではピークがブロードになるため、アセトニトリル：10mMKH₂PO₄系の移動相で分析を行った。

4. GC条件の検討

イプロジオンはGC分析も可能であるため、GC-ECDで分析条件の検討を行った。内径0.53mmのワイドボアカラム(DB-1)を用いたところ、本体、代謝物とも再現性よく分析が可能であった。イプロジオンは今回検

討したHPLC 5農薬の中では、試料中の妨害物質と重なることが多く、その場合GC-ECDで測定すると良好に判定できる場合もあった。

ピレスロイド系農薬は構造が類似しているため、GC-ECDで分析する際、保持時間が接近して同時分析が困難である。そこで11種類の農薬について2グループに分けて測定したところ、図2に示すとおりピークが重複せず、良好な分離が得られた。平成12年度は、シフルトリン、シペルメトリン、トラロメトリン、フルシトリネート、フルバリネート、ペルメトリンの6農薬について残留分析を行った。DB-5系のカラムではシペルメトリンとフルシトリネートの分離が困難なため、両農薬を同時分析する場合は添加回収試験を分けて行った。また、エトフェンプロックスはピレスロイド系農薬ではあるが構造内にハロゲン元素がなくGC-ECDは検出で

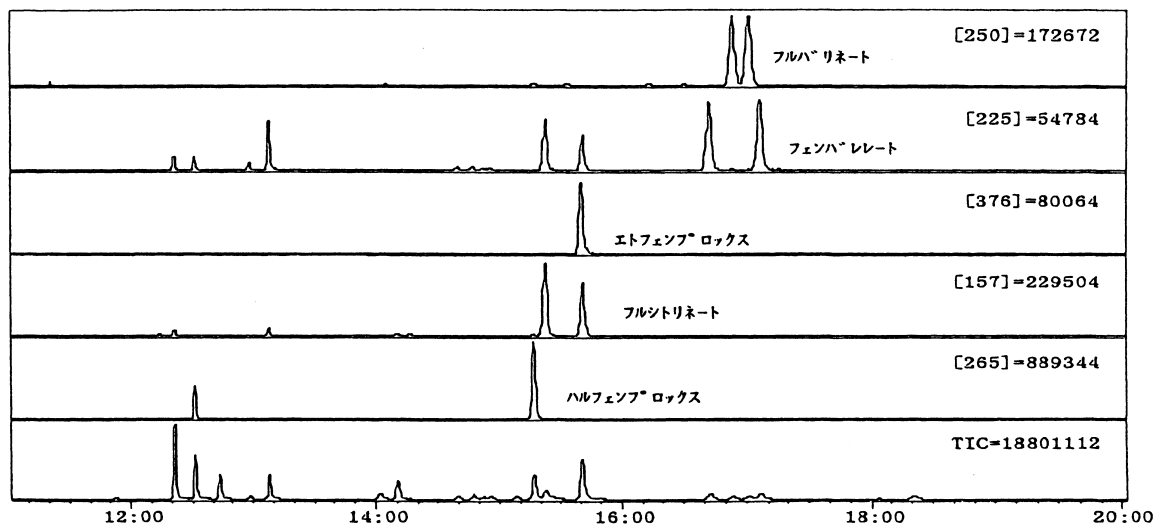


図3 GC/MSのクロマトグラム(各1 ppm)

表2 行政試験試料の添加回収率

農産物	回収率 (%)					
	イプロジオン	イプロジオン代謝物	エトフェンプロックス	クロルフルアズロン	フェンピロキシメートE体	フェンピロキシメートZ体
ちんげんさい	—	—	—	—	—	—
未成熟えんどう	96.5	99.4	94.5	—	—	—
びわ	96.3	94.9	—	94.4	99.7	113
茶	—	—	95.9	102	101	103
きゃべつ	—	—	—	—	—	—
きゅうり	—	—	—	96.9	97.6	91.4
メロン	97.6	92.1	—	94.9	88.6	97.1
きゅうり	—	—	87.5	84.1	—	—
くわいり	89.9	76.4	—	80.5	72.8	76.6
玄米	—	—	85.0	—	—	—
れんこん	—	—	—	—	—	—
レタス	97.5	107	97.2	—	—	—
みかん	83.8	97.5	—	—	—	—
みかん	—	—	—	—	—	—
はくさい	—	—	—	77.2	—	—
いよかん	99.7	97.9	—	—	—	—
なつみかん(全体)	—	—	91.5	80.5	—	—

農産物	回収率 (%)					
	シフルトリン	シベルメトリン	トラロメトリン	フルシトリネート	フルバリネート	ベルメトリン
ちんげんさい	—	87.9	95.6	102	94.5	90.9
未成熟えんどう	80.8	78.4	—	—	—	85.0
小麦	—	100	—	—	—	116
びわ	—	93.9	99.3	—	97.1	—
うめ	88.1	—	91.3	81.1	—	88.1
茶	—	94.1	80.1	—	74.3	95.3
きゃべつ	—	95.3	101	—	90.4	107
にんじん	—	105	103	82.3	—	96.8
きゅうり	—	100	101	—	97.6	101
メロン	96.4	90.8	—	—	96.9	81.1
かんしょ	104	—	—	107	—	—
きゅうり	114	116	118	—	—	118
くわいり	—	89.0	88.9	—	—	—
玄米	—	—	—	—	—	96.0
大根(根)	—	96.4	91.9	—	101	95.9
れんこん	—	—	—	107	—	104
レタス	—	—	103	117	—	108
ねぎ	101	—	97.1	94.3	—	—
みかん	89.4	102	101	—	103	114
はくさい	—	99.2	101	—	99.3	98.1
春菊	—	—	99.3	—	—	74.9
いよかん	—	88.3	77.6	—	—	79.7
なつみかん(全体)	84.2	103	84.6	—	90.6	103

表3 行政試験試料の回収率（トリフルミゾール）

農産物	回収率 (%)	
	トリフルミゾール	トリフルミゾール代謝物
ちんげんさい	71.3	98.1
未成熟えんどう	—	—
びわ	—	—
茶	—	—
きゃべつ	84.1	94.4
きゅうい	93.0	84.5
メロン	—	—
きゅうり	81.0	82.2
くわい	—	—
玄米	—	—
れんこん	94.5	91.5
レタス	84.1	81.3
みかん	—	—
みかん	97.0	83.0
はくさい	—	—
いよかん	93.3	78.8
なつみかん(全体)	—	—

表4 農産物の添加回収率 (n = 5)

	回収率 (%)		
	みかん	きゅうり	れんこん
イプロジオン	94.8 ± 2.3		
イプロジオン代謝物	97.6 ± 1.4		
クロルフルアズロン	85.8 ± 2.4		
フェンピロキシメートE体	97.6 ± 0.9		
フェンピロキシメートZ体	96.5 ± 1.9		
エトフェンプロックス	91.3 ± 1.7		
トリフルミゾール			88.9 ± 2.3
トリフルミゾール代謝物			89.0 ± 3.5

(添加量 各0.2 μg/g)

きないが、図3に示すとおりGC-MSで他のピレスロイド系農薬と同様な条件で分析可能であった。イプロジオン、イプロジオン代謝物も同様な条件で分析できた。平成12年10月に当科にGC-MSが導入され、今回は分析条件の検討を行うにとどまったが、今後、実際の農薬残留分析に活用していきたい。

5. 行政試験結果

平成12年度は行政試験として県内産の26農産物(30検体)について、40農薬延べ400項目の残留農薬検査を実施した。試料分析時には添加回収試験を平行して行なった。そのうち本法を用いて同時抽出を行ったピレスロイド系農薬6農薬、イプロジオン等4農薬については、表2に示すとおり良好な回収率が得られた。トリフルミゾールは8農産物について単分析を行い、表3に示すとおり代謝物も含め71.3～98.1%の回収率が得られた。

また、イプロジオン等4農薬およびトリフルミゾールについて、みかん、きゅうり、れんこんを用いて添加回収試験(n=5)を行った結果を表4に示した。回収率80%以上、変動係数4%以内と非常に良好な結果が得られた。ここには示さなかったが、有機塩素系農薬およびピレスロイド系農薬についても、みかん、きゅうり、かんしょを用いて添加回収試験(n=5)を行い、良好な結果を得た。

試料からは、これら農薬はいずれも検出されなかった。

定量限界は、ピレスロイド系農薬0.01～0.02ppm、トリフルミゾールを除く4農薬はHPLC測定で0.05ppm、トリフルミゾールは0.1ppmであった。

まとめ

1. 今回、残留農薬検査の効率化を図るため、有機塩素系農薬と同様ヘキサシアン転溶が可能なピレスロイド系農薬とHPLCで分析を行うイプロジオン等5農薬について同時抽出法を検討した。
2. HPLCで分析を行う農薬のうちトリフルミゾールを除く4農薬は、本法で良好な回収率が得られた。
3. トリフルミゾールは農産物中の夾雑物やpH等の影響を受けるため、今回検討した他の農薬と一斉分析することは困難であったが、pH調整により、ジクロロメタンを使用する告示法に依らず本法で分析することが可能であった。
4. 本法は、従来系統別に分析を行っていた有機塩素系農薬、ピレスロイド系農薬、HPLCで分析を行うイプロジオン等4農薬の同時抽出が可能であり、残留農薬試験の効率化を図るために有効な方法であると考えられる。

文献

1. 厚生省告示第216号“食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件”，平成11年10月1日
2. 大野智也佳ほか：愛媛衛環研年報，1，26-30(1998)
3. 厚生省告示第237号“食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件”，平成11年11月22日