

有機リン系農薬の多成分分析法の検討

阿部敦子 鈴木恵子 佐藤 稔* 佐藤勇次
菊地由生子

要 旨

前処理におけるクリーンアップの方法として、ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)が有効である事をこれまで報告してきたが、今回は、42種の有機リン系農薬について、抽出溶媒と酢酸エチル転溶の方法に検討を加えた結果、より多くの試料を一度に処理することができるようになった。GC上の問題点として、注入後の農薬がGCカラムへの吸着などにより損失する割合が、試料溶液の方が標準溶液よりも少ないために、回収率が100%を越えることが指摘されているが、今回も、この傾向が顕著に現われた。

1. 緒 言

新たな残留基準の制定と輸入農産物の増加などに伴い、より簡便な多成分分析法の開発が急がれている。当所では、前処理にGPCを用いこの過程を自動化することにより収去検査の効率化を図ってきた。今回、有機リン系農薬について、前処理を一部改良し、その問題点を検討したので、報告する。

2. 方 法

2-1 試 薬

標準溶液は林純薬(株)製、又は和光純薬(株)製の標準品を用いて、約1000 μ g/mlのアセトン溶液とした。これを適宜希釈して10 μ g/mlのアセトン溶液を調製し、さらにこの溶液を用いて各々0.2 μ g/mlの混合標準液(A)、(B)を調製した。標準溶液のクロマトグラムを図1に示した。

GPC用溶媒は液クロ用を、その他の溶媒及び、無水硫酸ナトリウムと塩化ナトリウムは、残留農薬試験用を用いた。

2-2 装 置

ガスクロマトグラフ、GPC装置は、既報¹⁾に準じた。

2-3 前処理方法

サンプリング及び試料の調製法は、厚生省告示に従って行った。ただし、大豆、小豆、玄米などは、粉碎するときの発熱による農薬の揮散が懸念されたため、粒のまま秤量し、同量の水を加えて膨潤させたのち抽出を行った。

硫黄化合物の妨害を受けやすいネギなどについては、試料を凍結した状態で粉碎し、秤量以下の操作を速やかに行うことにより、酵素反応による妨害物質の生成を押さえた。²⁾

抽出は、従来のアセトンに変えて、アセトニトリルを用いた。また、粗抽出液を濃縮した後、従来は塩化ナトリウムの水溶液を加え分液漏斗で酢酸エチル抽出を行っていたが、今回は、濃縮液に直接塩化ナトリウムの結晶を加え、遠心分離機を用いて抽出を行った。

フローシートを図2に示した。

2-4 定量方法

ガスクロマトグラフの操作条件は表1の通りとし、

* 札幌市厚別保健所

濃度の算出は、ピーク面積法によった。

トリクロロホンについては、注入口で熱分解して生ずるジメチルフォスファイト(DMP)のピーク面積で測定した。分子量比で換算すると、分解して生ずるDMPはトリクロロホンの1、2割であったが、検量線は直線を示した。このGC条件では、トリクロロホンは、カラムに強く保持され、ピークは検出されなかった。

3. 結果および考察

3-1 抽出溶媒の検討

抽出溶媒をアセトンからアセトニトリルに変えたことにより、試料由来の油などの妨害物質の粗抽出液への移行を押さえることができた。穀類などの水分の少ない試料において、アセトン抽出の際には、アセトンの含水率を上げないと農薬の回収率が悪いことが知られているが、クロルピリホスメチルとマラチオンを検出した小麦粉を用いて、水の有無のアセトニトリル抽出に与える影響を検討したところ、ほとんど差は無かった。

また、イソキサチオンを検出した玄米の前処理において、試料を秤量する前に粉碎すると、ぬかが分離して均一にならず定量値がばらついたが、粒のまま秤量し、水を加えて膨潤する方法に変えることにより改善された。

3-2 酢酸エチル転溶の方法の検討

遠心分離機を用いて酢酸エチル抽出を行った結果、エマルジョンの生成も起こらず、溶媒も従来法と比較して、約4分の1に減らすことができた。

3-3 GPCカラムからの各農薬の溶出状況

表2の通りであり、42種の農薬すべてを回収するには18分から32分を分取することが必要であった。GPCカラムの劣化に伴い、各農薬の保持時間が次第に早くなる傾向があったが、回収率に影響はなかった。

3-4 添加回収試験の結果

0.01 µg/gとなるように混合標準液(A)、(B)を試料に添加し、添加回収試験を行った。回収率は

表3の通りであった。

回収率が100%を大きく越えるものが多数あり、マトリクスの影響でGC感度に差が出るという報告もあるが³⁾、今回は、添加濃度が低いこともあって、特にこの傾向が強く現われたものと思われる。

ジスルホトンが回収されなかったものは、前処理を始めてからGCの測定までに1週間以上経過したものであった。また、GC用のアセトン溶液の状態に添加試料を1週間冷蔵庫中で放置すると、ジスルホトンのピークが消失したことから、酸化物も含めて定量する必要があると思われる。

イソキサチオンについては、標準品のGC感度が他の農薬に比べて極端に低く、回収率の試料によるばらつきも大きいため、GCカラム内での挙動に対するマトリクスの影響が他の農薬より大きいと考えられ、前処理過程での消長よりは、GCにおける問題点を先に解決しなければならないと考えられる。

3-5 実試料の調査

平成6年7月から平成7年4月までの収去及び依頼検査で持ち込まれた輸入及び国内産の農産物93検体の検査を、この方法を用いて行った。農薬を検出したものについては、必要に応じて、標準添加法を用いて定量したり、農薬を検出していないことを確認した試料溶液で標準品を希釈したものをを用いて、定量した。結果は、表4の通りで、食品衛生法の基準値を上回ったものは無かった。

4. 結 語

従来の GPC 多成分分析法に改良を加え、42種の有機リン系農薬について、10 検体程度のスクリーニングが1週間ほどでできるようになった。今後は、GC 上の問題点を解決するとともに、熱分解しやすい農薬や、水溶性の高い農薬についてもこの方法に組み込めるよう検討したい。

5. 文 献

- 1)山本優，他：札幌市衛生研究所年報，20，124-131，1991.
- 2)長南隆夫：食品衛生学雑誌，33，543-547，1992.
- 3)金津香陽子，他：横浜市衛生研究所年報，33，101-104，1994.

Reforming Examination on Multiresidue Analysis of Organophosphorous Pesticides

Atsuko Abe, Keiko Suzuki, Minoru Sato^{*}, Yuji Sato,
Yuko Kikuchi

Using Gel Permeation Chromatography (GPC) for the sample preparation, simultaneous analysis method of 42 pesticides was studied. Pesticides were extracted from samples using acetonitril. After crude extract solution was concentrated in a centrifuge tube connected to K.D. condensing apparatus, solid NaCl, water, and ethyl acetate were added, adjusting NaCl concentration of aqueous layer 20%. Pesticides was re-extracted by shaking and centrifuging twice. After concentration and adding the same volume of cyclohexane, sample was applied to GPC. Necessary fraction(90ml-160ml) was concentrated and analyzed by FPD/GC.

The reason recoveries of many pesticides were beyond 100%(spiked concentration:0.01 μ g/g)was supposed to be the phenomenon called matrix effect, which the loss of pesticides of standard solution when they pass through the GC column is bigger than that of sample solution, as Kanatsu et.al previously reported.

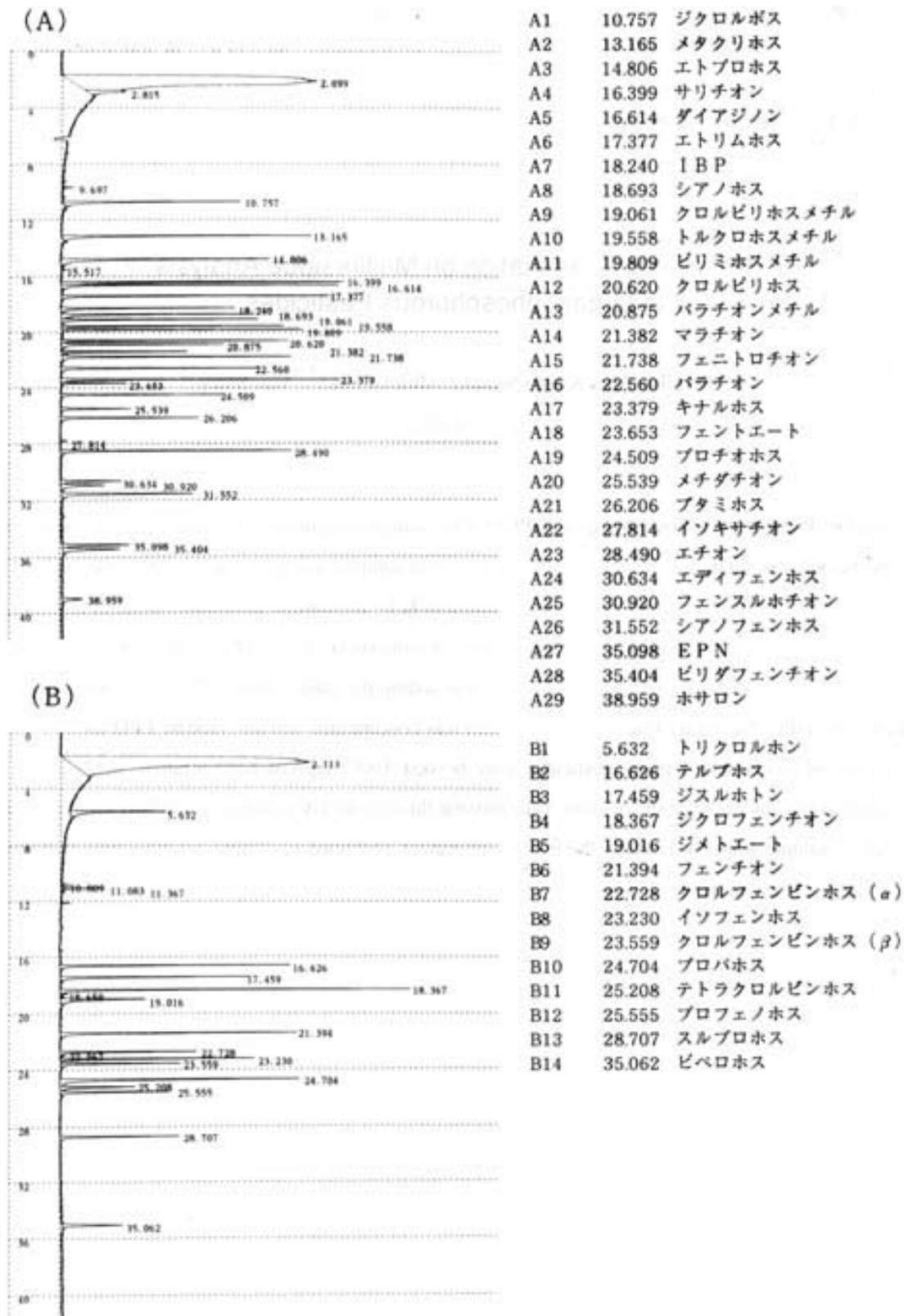


図1 クロマトグラム

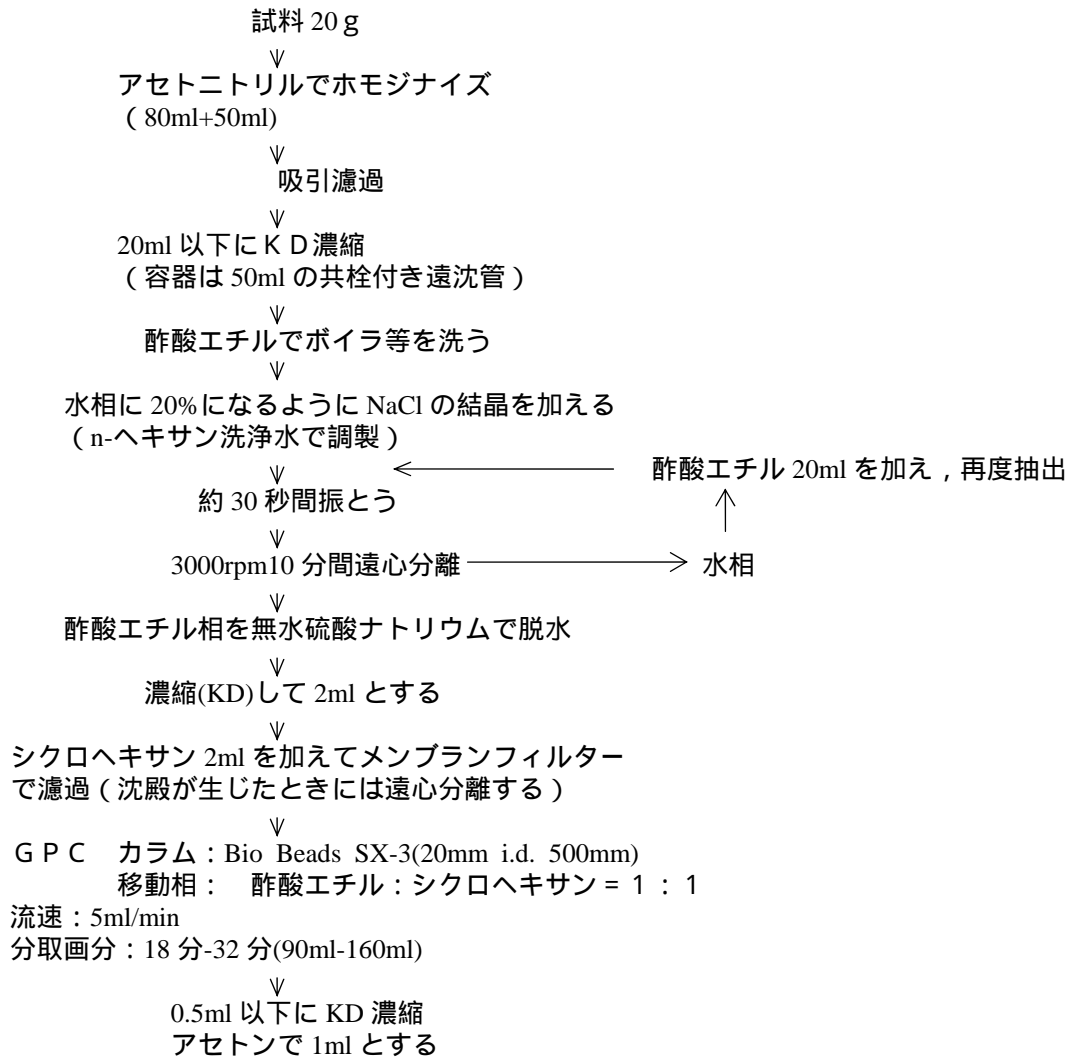


図 2 前処理手順

表 1 ガスクロマトグラフィーの条件

検出器：FPD検出器
カラム
カラム 1 (スクリーニング用)：DB-1701(0.25mm i.d×30m,膜厚 0.25 μm)
カラム 2 (確認用)：DB-210(0.25mm i.d×30m,膜厚 0.25 μm)
カラム 3 (確認用)：DB-5(0.25mm i.d×30m,膜厚 0.25 μm)
カラム温度
カラム 1：60 (2min)-15 /min-210 (2min)-3 /min-270 (10min)
カラム 2：60 (2min)-15 /min-180 (2min)-3 /min-240 (10min)
カラム 3：60 (2min)-20 /min-150 (2min)-5 /min-300 (10min)
注入口温度：250
キャリアーガス：ヘリウム 1.2 kg/cm ²
メイクアップガス：窒素 20ml/min
注入量：2 μl
注入方法：スプリットレス法

表 2 GPC における各農薬の溶出画分

	農薬名	ml		農薬名	ml
A 1	ジクロロホス	105-115	B 1	トリクロロホン	100-125
A 2	メタクリホス	105-130	B 2	テルブホス	105-120
A 3	エトプロホス	110-130	B 3	ジスルホトン	100-120
A 4	サリチオン	120-150	B 4	ジクロロフェンチオン	100-125
A 5	ダイアジノン	90-120	B 5	ジメトエート	110-130
A 6	エトリムホス	105-130	B 6	フェンチオン	120-140
A 7	I B P	105-125	B 7	クロルフェンビンホス	95-120
A 8	シアノホス	110-140	B 8	イソフェンホス	90-120
A 9	クロルピリホスメチル	110-140	B 9	クロルフェンビンホス	100-130
A10	トルクロホスメチル	115-140	B10	プロバホス	105-125
A11	ピリミホスメチル	105-130	B11	テトラクロルビンホス	110-130
A12	クロルピリホス	105-130	B12	プロフェノホス	110-130
A13	パラチオンメチル	110-135	B13	スルプロホス	110-135
A14	マラチオン	105-135	B14	ビペロホス	100-125
A15	フェニトロチオン	110-140			
A16	パラチオン	105-135			
A17	キナルホス	110-135			
A18	フェントエート	110-135			
A19	プロチオホス	105-130			
A20	メチダチオン	120-135			
A21	ブタミホス	90-120			
A22	イソキサチオン	110-125			
A23	エチオン	95-130			
A24	エディフェンホス	115-145			
A25	フェンスルホチオン	115-135			
A26	シアノフェンホス	105-135			
A27	E P N	135-105			
A28	ピリダフェンチオン	110-135			
A29	ホサロン	105-120			

表3 各農作物における添加回収試験結果(0.01µg/gとなるように添加:単位%)

	バナナ	オレンジ	大豆	小麦粉	キウイ	リンゴ	みかん	レモン	アボガド	かぶ根
ジクロロボス	250	98	92	26	75	80	80	89	79	96
メタクリホス	260	110	120	80	100	80	120	110	78	65
エトプロホス	310	120	120	96	120	94	110	120	120	94
サリチオン	590	130	120	90	140	87	140	220	140	91
ダイアジノン	120	110	100	88	89	100	100	46	80	81
エトリムホス	240	120	120	93	110	110	130	100	100	100
I B P	290	150	150	110	140	130	140	130	130	120
シアノホス	360	140	140	95	130	110	160	130	110	100
クロルピリホスメチル	280	130	130	98	130	91	130	91	100	110
トルクロホスメチル	260	130	130	100	120	97	110	120	160	110
ピリミホスメチル	230	130	130	94	98	71	110	39	94	110
クロルピリホス	330	160	120	99	140	140	120	98	98	110
パラチオンメチル	410	150	140	110	160	140	170	120	110	120
馬拉チオン	260	150	150	100	150	130	160	110	120	120
フェントロチオン	330	150	140	110	170	120	170	140	110	110
パラチオン	280	120	130	100	140	120	140	110	120	110
キナルホス	310	140	120	100	130	110	140	110	110	130
フェントエート	190	210	230	140	140	140	66	78	97	120
プロチオホス	250	130	120	110	130	160	130	99	120	110
メチダチオン	530	200	150	160	160	110	180	180	150	140
ブタミホス	190	120	110	100	140	110	130	120	120	130
イソキサチオン	490	350	0	330	310	110	760	400	0	0
エチオン	240	130	130	110	130	110	140	96	120	100
エディフェンホス	420	220	150	160	220	170	230	230	130	98
フェンスルホチオン	350	200	160	120	130	170	260	400	140	88
シアノフェンホス	250	130	120	110	150	120	150	110	110	100
E P N	300	140	140	120	180	150	160	110	150	100
ピリダフェンチオン	390	210	150	120	180	170	170	190	210	140
ホサロン	510	240	210	120	190	170	220	280	150	110
トリクロロホン	140	100	120	72	150	131	130	64	230	妨害
テルブホス	73	81	56	81	15	53	75	48	160	110
ジスルホトン	68	48	0	26	0	0	110	0	93	68
ジクロフェンチオン	87	100	100	95	96	110	100	97	140	96
ジメトエート	260	120	130	170	170	400	妨害	妨害	140	42
フェンチオン	87	95	67	92	38	98	130	110	140	90
C V P ()	88	96	110	90	96	160	190	110	160	100
イソフェンホス	43	98	84	82	100	130	110	100	170	93
C V P ()	94	110	110	94	110	170	180	130	140	91
プロバホス	93	86	57	52	35	98	160	81	180	110
テトラクロルピンホス	150	120	110	110	130	170	170	170	150	150
プロフェノホス	120	130	110	100	130	170	170	160	200	120
スルプロホス	73	94	57	30	42	88	140	98	180	89
ピペロホス	110	110	110	98	110	140	200	81	300	160

表4 試料の検査結果

試料名	検査件数	検出件数	検出農薬名(濃度 $\mu\text{g/g}$)
グレープフルーツ	6	2	クロルピリホス(0.02, 0.03) イチオン(0.06) メチダチオン(0.07)
レモン	6	2	クロルピリホス(0.03, 0.07)
オレンジ	6	5	クロルピリホス(0.02-0.14) ジメトエト(0.04)
バナナ	8	3	クロルピリホス(0.02-0.04)
もも	2	1	サリチオン(0.01)
いよかん	1	1	メチダチオン(0.01)
リンゴ	5	0	
その他の果実	15	0	
ほうれん草	3	1	フェントエト(0.01)
いんげん	1	1	ジメトエト(0.01)
じゃがいも	2	0	
たまねぎ	2	0	
アスパラ	4	0	
かぼちゃ	4	0	
にんじん	2	0	
枝豆	2	1	クロルピリホス(0.05) EPN(0.01)
その他の野菜	6	0	
小麦粉	5	3	クロルピリホスメチル(0.02-0.13) マラチオン(0.01-0.14)
玄米	4	2	イソキサチオン(0.09-0.13)
大豆	2	0	
小豆	1	0	
冷凍フライドポテト	6	0	
合計	93	22	