

14 なつみかん外果皮中のカルバリル (NAC) 定量法についての検討

Studies on the Determination of Carbaryl (NAC) in Natsumikan — Peel

中島 純夫 大森 茂 平田 睦子
岸 信夫 青木 襄

Sumio Nakajima, Shigeru Omori, Mutsuko Hirata
Nobuo Kishi and Minoru Aoki

要 旨

なつみかん外果皮中のカルバリル (1-naphthyl *N*-methyl carbamate, NAC) 公定分析法の追試を試み、フロリジルカラムの溶離液を *n*-ヘキサン・アセトン (9:1) とし、さらに、NAC をモノクロルアセチル (MCA) 化した後、ECD-GC を行い好結果を得た。

また、ベンゼン抽出を行うことにより、有機塩素系および有機リン系農薬と NAC との同時抽出が可能となった。

1 緒 言

現在使用されているカルバメート系殺虫剤のうち、果実や野菜中の残留基準が設定されているのは、NAC のみである。

NAC 分析公定法¹⁾ においては、そのクリーンアップに *n*-ヘキサン・ジクロルメタンを溶離液とするフロリジルカラムを用いるが、著者らが検討したところでは、その溶出はフロリジルの活性化度合により影響を受け易く、また、なつみかん外果皮中に多く含まれるカロチノイド等の黄色色素が比色定量の妨害となり易い。

NAC 分析法に関しては、AOAC 法²⁾ をはじめ数多く報告されているが、このうちガスクロマトグラフィー (GC) によるものとしては、N

AC を直接、水素炎イオン化ガスクロマトグラフィー (FID-GC) あるいはフレームサーミオンニクガスクロマトグラフィー (FTD-GC) で定量する方法^{3) 4)} と NAC を誘導体化してエレクトロンキャプチャーガスクロマトグラフィー (ECD-GC) あるいは炎光光度ガスクロマトグラフィー (FPD-GC) を用いる方法^{5~10)} とに大別される。

著者らは、なつみかん外果皮から NAC をベンゼン抽出し、*n*-ヘキサン・アセトン (9:1) を溶離液とするフロリジルカラムクロマトグラフィーを行った後、NAC を MCA 化したものにつき、ECD-GC を行ったところ、好結果が得られルーチン検査に充分適用可能な試験法と思われたので、報告する。

2 実験方法

2-1 試 料

札幌市内で購入したなつみかんの外果皮を、ミキサーでホモジナイズし、試験に供した。

2-2 試 薬

n-ヘキサン、アセトン、メタノール、無水硫酸ナトリウムおよび無水モノクロル酢酸については残留農薬試験用を、その他の試薬については特級を使用した。

フロリジルカラム：F社製フロリジルPR20gを130°で16時間活性化させ、ガラス製デシケータ中で正確に1時間放冷後、20mm×300mmのガラス管にn-ヘキサンを用いて充てんした。

NAC標準溶液：農薬標準品100mgをメタノールを用いて1Lとし、原液とした。原液より、添加回収用1ppm水溶液、ならびに、1ppmおよび0.1ppmベンゼン溶液等を順次調製した。

2-3 装置

オムニミキサー：SORVAL社製

遠心分離器：(株)久保田製作所製KR12A3型

ガスクロマトグラフ：(株)島津製作所製GC-5A型(ECD⁶³Ni付)

2-4 ガスクロマトグラフの測定条件

2-4-1 カラムI

カラム管：ガラス製(内径3mm,長さ2.0m)以下同一カラム管

充てん剤：2%OV-17/GaschromQ 60~80メッシュ

カラム温度：180°
注入口温度：210°
検出器温度：280°

以下同一条件

キャリアーガス流量：純窒素40ml/min

2-4-2 カラムII

充てん剤：2%DEGS+0.5%H₃PO₄/GaschromQ 60~80メッシュ

キャリアーガス流量：純窒素70ml/min

2-5 試料の調製および測定

2-5-1 抽出

食品中の残留農薬試験法¹⁾にはば準じて行った。すなわち、ホモジナイズした試料100gを1Lのオムニミキサーカップにとり、これにアセトン70ml,ベンゼン100mlを加え、10分間激しくかき混ぜる。ついで、遠心分離後、上層を500mlの三角フラスコにとり、下層は再びオムニミキサーカップにもどし、ベンゼン100mlを加えて再

抽出を行い、上層を上記三角フラスコに合わせる。このベンゼン抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水し、クーデルナー・ダニッシュ濃縮器で正確に10mlに濃縮する。

2-5-2 フロリジルカラムによる精製

クロマト管に充てんされたフロリジル上に約1gの無水硫酸ナトリウムをのせ、n-ヘキサン150mlで洗浄する。ついで、ベンゼン抽出液1mlをのせ、n-ヘキサン・アセトン(9:1)混液でNAC等を溶出させる。

最初の溶出液80mlはすて、つぎの溶出液120mlをとり、クーデルナー・ダニッシュ濃縮器で約2mlに濃縮する。なお、溶出速度は、4ml/minとした。

2-5-3 MCA化

MCA化条件については、ほぼ、星野ら⁷⁾の方法に従い、これに今中ら¹¹⁾が畜産食品中の当該分析に用いている、アルカリ加水分解物をベンゼンで洗浄する操作を加えた。すなわち、上記濃縮液を窒素を送りながら乾固させた後、メタノール1mlおよび0.2N水酸化カリウムメタノール溶液1mlを加えて室温で20分間放置する。アルカリ分解後、溶媒を窒素を送りながら留去させ、その残渣をベンゼン10mlおよび0.25N水酸化ナトリウム2%塩化ナトリウム溶液10mlで分液漏斗中に洗い入れ、軽く振り混ぜ、下層を他の分液漏斗にうつし、再度ベンゼン10mlで洗浄する。水層に2%無水モノクロル酢酸ベンゼン溶液10mlを加え、30秒間強く振り混ぜてから水層をすて、ベンゼン層を水10mlで洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、その2μlをガスクロマトグラフに注入する。

2-6 検量線

NAC 0.1ppmベンゼン溶液からNACの0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5および0.6μg相当をとり、2-5-3のMCA化条件に従って反応させた後、2%DEGS+0.5%H₃PO₄を用い、得られた

クロマトグラムのピーク高から絶対検量線により検量線を作成した。

3 結 果

3-1 フロリジルカラムの溶出パターン

公定法のクリーンアップは、溶離液をn-ヘキサン・ジクロロメタン(1:1)とするフロリジルカラム(フロリジル量10g)およびアセトンを溶離液とする活性炭カラムによっているが、活性炭カラムでは、なつみかん外果皮中の黄色色素の大部分が溶出された。

一方、著者らが行ったところでは、130°C 16時間活性化させたフロリジルからは、n-ヘキサン・ジクロロメタン(1:1)液 200ml 溶出でもNACが溶出されなかった。また、フロリジル量について、その10gおよび20gで比較したところ、10gの場合は、溶出速度が速すぎて色素との分離が悪く、20gの場合は、溶出液80ml までは、NACの溶出はないが、つぎの100ml 中に溶出された(図1)。

また、なつみかん外果皮中の黄色色素の大部分は最初の80ml に溶出された。

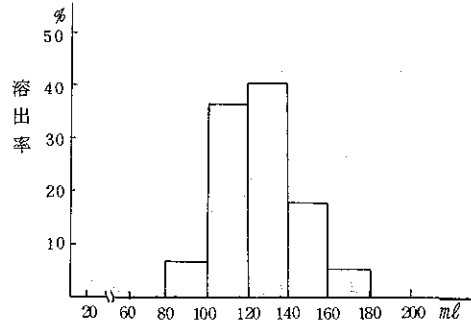
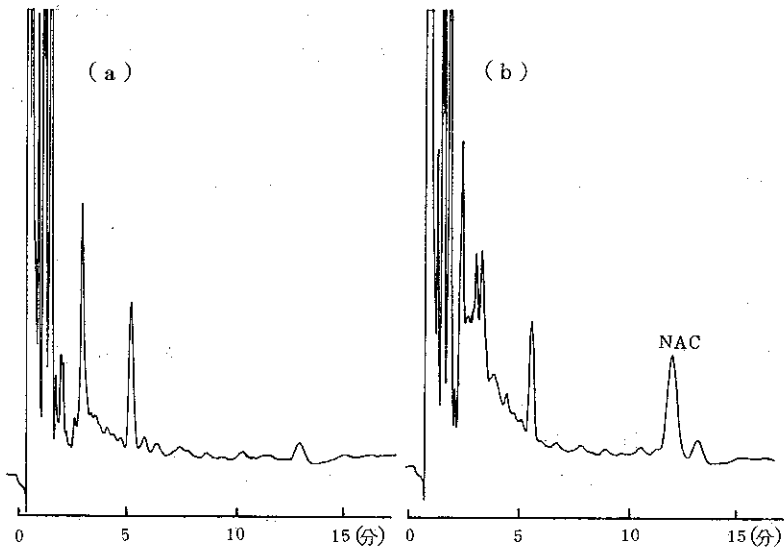


図1 フロリジルカラムからのNAC溶出パターン

3-2 MCA化

MCA化のまえにアルカリ加水分解物をベンゼンで洗浄することにより、フロリジルカラムで除去できなかった色素成分をさらに除くことができた。また、2%DEGS+0.5% H_3PO_4 カラムによるなつみかん外果皮抽出物のガスクロマトグラムは、NACの位置に妨害ピークが少なかった(図2)。



(a)なつみかん外果皮:(b)なつみかん外果皮+0.05ppm NAC

図2 なつみかん外果皮抽出物のガスクロマトグラム

3-3 検量線

NACとして0.02~0.12 ngの範囲で良好な直線性を示し、検出限界は2%DEG S+0.5% H₃PO₄ ガスクロ用カラムでは、0.01 ppmであった。(図3)。

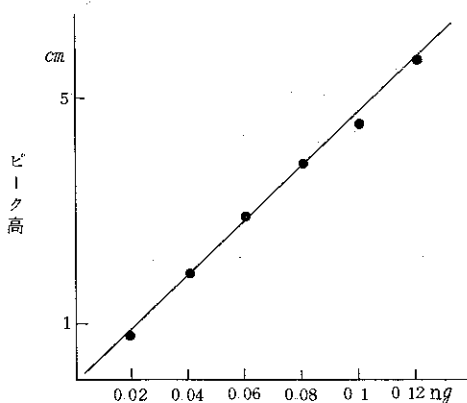


図3 NAC検量線

3-4 NACの添加回収実験

ホモジナイズした試料100 gに対し、1 ppm水溶液5 ml (試料10 g中NAC 0.5 μg 相当)を加えた後、実験方法2-5に従って操作し、回収率を求めたところ、平均回収率79.7%であった(表1)。

表1 添加回収率

NAC添加量 (μg)	検出量 (μg)	回収率 (%)	平均 (%)
0.5	0.38	75.5	79.7±3.7
	0.42	83.6	
	0.39	78.0	
	0.42	83.6	
	0.39	77.7	

4 考察

フロリジルカラムの溶離液については、ジクロルメタン、n-ヘキサン・ジクロルメタン(1:1)、n-ヘキサン・エーテル(9:1)、n-ヘキサ

ン・アセトン(9:1)等につき検討したが、n-ヘキサン・アセトンが、クリーンアップに最適であった。

NACは、Nメチルカルバミン酸とα-ナフトールのエステルであって、加熱することにより分解され、一部α-ナフトールとなる。

従って、NACをFID-GCに注入した場合、NACの一部は、注入口あるいはカラム管で分解され、ガスクロマトグラム上に二つのピークとして出現する。このため、NAC定量下限値をあげる結果となり、また、なつみかん外果皮色素成分は、ガスクロマトグラム上に多数の妨害ピークを与えるので、FID-GCによるNAC定量は不适当であると考えられる。これに対して、操作は多少煩雑となるが、NACをMCA化し、ECD-GCを行った場合は、感度ならびに再現性の高いクロマトグラムが得られた。

なつみかん外果皮中のNAC定量は、2%OV-17および2%DEG S+0.5%H₃PO₄を用いることにより可能であるが、他のカルバメート系殺虫剤との同時定量の際は、それが、なつみかん外果皮に由来する多数のピークと重なり合うことが予想されるため、より完全なクリーンアップ操作が必要と思われる。

5 結語

- 1) フロリジル20 gを用い、n-ヘキサン・アセトン(9:1)でNACを溶出させ、そのアルカリ加水分解物をベンゼンで洗浄することにより、NAC定量の妨害となる成分を大部分除去できた。
- 2) 平均回収率は79.7%とやや低いが、NACのルーチン検査には充分適用できるとと思われる。
- 3) ベンゼン抽出を行うことにより、NACと有機塩素系農薬および有機リン系農薬との同時抽出が可能であった。

6 文 献

- 1) 食品衛生法（食品，添加物等の規格基準）
- 2) Official Methods of Analysis of the Assoc. Offic. Anal. Chem. 11th ed. 493 (1970)
- 3) L. G. Weyer · J. AOAC, 57, 778 ~ 780 (1970)
- 4) 戸田和子，藤原光男：食衛誌，16, 417 (1975)
- 5) 宮田秀明，櫻本隆：食衛誌，15, 485 (1974)
- 6) 関田寛，鈴木隆，武田明治，田辺弘也：食衛誌，15, 219 (1974)
- 7) 星野和行，加藤玲子，佐藤信俊，塚敬一：食衛誌，16, 275 (1975)
- 8) E. R. Holden · J. AOAC, 56, 713 (1973)
- 9) S. B. Mathur, Y. Iwata, F. A. Gunther · J. Agr. Food Chem · 26, 768 ~ 770 (1978)
- 10) J. C. Maithen, L. M. Mc Donough: J. Agr · Food Chem · 28, 78 ~ 82 (1980)
- 11) 今中雅章，松永和義，石田立夫，岡山県環境保健センター年報 · 2, 182 (1978)