

# 酵素免疫測定法を利用した残留農薬分析法 (第3報)

江崎好美<sup>1</sup>

## Analytical Method of Residual Pesticide in Food by Enzyme Linked Immunosorbent Assay(Part 3)

Yoshimi ESAKI

### 要 旨

2,4,5-T及びそのエステル類計11種類を対象とし、OHMICRON社製のRaPID Assay シルベックス検出キットを用いて農作物中の残留農薬分析法の検討を行った。

#### 1. 操作別の農薬の回収率

- ・50%酢酸エチル/ヘキサンでの抽出率は、いずれの農薬においても90%以上と良好であった。
- ・トリメチルシリルジアゾメタンを用いたメチル化操作では、同一操作、異日操作いずれもばらつきは1%前後で、平均して92.6%の2,4,5-Tを安定してメチル化することができた。また、エステル類がメチルエステルに交換されることもなかった。
- ・フロリジルカラムからの溶出は、エステルの種類に関わらず30%エーテル/ヘキサン30mlで9割以上溶出した。2,4,5-Tはどの溶媒を用いても溶出してこなかったが、あらかじめ2,4,5-Tをメチルエステルにエステル化することにより、対象農薬全てを同時に溶出させることができた。

#### 2. 8農作物における対象農薬の添加回収実験

8農作物に11種類の対象農薬を添加し添加回収実験を行ったところ、小麦や小豆で一部回収率の悪い農薬があったが、それ以外は71～137%と回収率は良好であった。なお、試料換算した対象農薬の検出下限は、2,4,5-Tとして0.012～0.25ppmであった。

**Key Words :** 酵素免疫測定法 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), 農薬 Pesticides  
2,4,5-Tエステル類 2,4,5-T esters, 2,4,5-T 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid  
市販キット Commercial Kits, 交差性 cross-reactivity, 抗体 antibody

### I はじめに

ベトナム戦争の枯葉作戦に使用されたことで有名な2,4,5-Tは、2,4,5-トリクロロフェノールを原料として製造するため、不純物として2,3,7,8-四塩化ダイオキシンを含む<sup>1)</sup>といわれている。また、土壌中の持続効果も長いことで知られている。

我が国では、1964～1975年まで農薬として登録されていたが、現在では使用禁止になっており、1995年より農作物中の残留基準が設けられている。その分析方法(以下、告示法とする)は、アルカリ塩やエステル類を分析対象としており、加水分解でエステル類を酸に変換

し、ブチルエステル化して、2,4,5-Tの含量を測定するというものである。しかしこの方法は煩雑で、測定に長時間を要する。

そこで、近年、残留農薬分析法の一つの手法として検討されている酵素免疫測定法(ELISA法)<sup>2)-7)</sup>を用いた2,4,5-T類の測定を検討したので以下報告する。

### II 方 法

#### 1. 試 料

トマト、白菜、キャベツ、みかん、りんご、グレープフルーツ、小麦、小豆の計8農作物

#### 2. 試 薬

1. 福岡市保健環境研究所 理化学課  
(現所属 博多区衛生課)

## 1) 対象農薬

Dr.Ehrenstorfer 社製の 2,4,5-T 及びそのエステル類計 11 種類

2,4,5-T, 2,4,5-T-メチルエステル, 2,4,5-T-イソプロピルエステル, 2,4,5-T-1-ブチルエステル, 2,4,5-T-2-ブチルエステル, 2,4,5-T-2-メチル-1-プロピルエステル, 2,4,5-T-1-オクチルエステル, 2,4,5-T-2-オクチルエステル, 2,4,5-T-イソオクチルエステル, 2,4,5-T-ブトキシエチルエステル, 2,4,5-T-2-エチルヘキシルエステル

- 2) 農薬標準液: 対象農薬の 200ppm メタノール溶液を作成し, 農薬標準原液とした. 操作別の農薬の回収率用には農薬標準原液をメタノールで希釈し, ELISA 法測定用には農薬標準原液を蒸留水で希釈し, 農薬標準液とした. ただし, シクロヘキサン溶液で販売されていたイソオクチルエステル及びブトキシエチルエステルの 10ppm 溶液については, シクロヘキサンをメタノールに置換し, 他の農薬と同様に調製した.
- 3) フロリジルカラム: Sep-Pak Plus (Waters 社製) をヘキサン 10ml でコンディショニングした.
- 4) 2M トリメチルシリルジアゾメタン/ヘキサン溶液: ALDRICH 製
- 5) その他の試薬は全て残留農薬分析用を用いた.

## 3. 市販キット

シルベックス検出キット (OHMICRON 社, USA)

磁性体コーティング抗体溶液, 酵素標識抗原, 発色剤水溶液, 反応停止液, チューブ, 希釈液

## 4. 使用機器

- 1) 磁石ユニット: 60 チューブ用 (OHMICRON 社製)
- 2) 吸光光度計: ハンディフォトメーター Model-6 (SCETI 社製)
- 3) ボルテックスミキサー: Model TME-21 (ADVANTEC 製)
- 4) 遠心機: K-28A (クボタ製作所製)
- 5) ECD-GC: Yanaco G2800 ECD-GC

ECD-GC 条件

カラム: 2%SE30 2.5mm  $\phi$   $\times$  1.5m  
キャリアガス: N<sub>2</sub> 1.6 ~ 1.9 kgf/cm<sup>2</sup>  
インジェクション温度: 240 °C デテクター温度: 250 °C  
カラム温度: 190 ~ 230 °C APPLIED: C  
注入量: 2  $\mu$ l

## 5. 測定方法

### 1) 抗原抗体反応

チューブに試験溶液あるいは農薬標準液をそれぞれ 250  $\mu$ l ずつ分注し, 酵素標識抗原 250  $\mu$ l 及び磁性体コーティング抗体溶液 500  $\mu$ l を加え, ボルテックスミキサーで攪拌後, 室温で 15 分間インキュベートした.

### 2) 洗浄操作

磁石ユニットにチューブを装着し, 5 分間放置することで抗体の分離を行った. 磁石ユニットにチューブをとりつけたまま, 溶液を静かに捨てた. 蒸留水 0.9ml を各チューブに静かに加え, 磁石ユニット上で 2 分間放置後, 磁石ユニットにチューブをとりつけたまま, 溶液を静かに捨て洗浄した. この洗浄操作を再度繰り返した.

### 3) 発色操作及び測定方法

チューブを磁石ユニットから取り外し, 発色剤水溶液 500  $\mu$ l を加えた. これを, ボルテックスミキサーで攪拌後, 室温で 20 分間インキュベートした後, 反応停止液 500  $\mu$ l を加え, 450nm で吸光度 (ABS) を測定した.

### 4) 結果の評価方法

次式により ABS を B/B<sub>0</sub> (%) に換算した.  
検量線は, 標準液の B/B<sub>0</sub> とそれぞれの濃度を片対数グラフに表し作成した. 検出下限は B/B<sub>0</sub> 値が 85 % 付近の濃度とした.

$$B/B_0(\%) = \frac{\text{標準液又は試料の ABS}_{450}}{\text{ブランクの ABS}_{450}} \times 100$$

## 6. 操作別の農薬の回収率

- 1) 50 % 酢酸エチル/ヘキサンによる抽出率について  
各農薬の 10ppm 標準液 1ml に, 蒸留水 20ml と (1+1) 塩酸 4ml 及び食塩 10g を加え, さらにアセトンを 60ml まで加え混和した. これに 50 % 酢酸エチル/ヘキサンを 90ml まで加え混和後, 上層を分取した. 下層には, 再度 50 % 酢酸エチル/ヘキサンを 80ml まで加え混和後, 上層を合わせ, ECD-GC を用いて有機層への農薬の移行率を求めた.
- 2) メチル化について  
2,4,5-T 1ppm 標準液 1ml をロータリーエバポレーターで濃縮乾固後, 30 % メタノール/酢酸エチル 2ml で溶解した. これに 2M トリメチルシリルジアゾメタン/ヘキサン溶液 (ALDRICH 製) 200  $\mu$ l を加え, 15 分間室温で放置してメチル化し, ECD-GC により同一操作でのばらつき及び操作日によるばらつきを求めた. また, 2,4,5-T のエステル類も同様にメチル化し, エステル類のエステル交換の有無を調べた.
- 3) フロリジルカラム処理について  
各農薬の 10ppm 標準液 1ml をロータリーエバポレーターで濃縮乾固後, ヘキサン 2ml に溶解した. これをフロリジルカラムに負荷し, ヘキサン 30ml,

15 %エーテル/ヘキサン 20ml, 30 %エーテル/ヘキサン 20ml, 50 %エーテル/ヘキサン 20ml, 80 %エーテル/ヘキサン 20ml, 及びエーテル 20ml で順次溶出させ溶出パターンを求めた。なお、測定にはECD-GCを用いた。

7. 試料からの試験溶液の調製方法

1) 試料からの抽出

試料 20g (小麦, 小豆の場合は試料 20g に蒸留水 15ml を加えた) に(1+1)塩酸 4ml と食塩 10g を加え, さらにアセトンを 60ml まで加えて混和した。これに 50 %酢酸エチル/ヘキサンを 90ml まで加え混和後, 遠心分離(1000rpm, 10 分間)し上層を分取した。下層には, 再度 50 %酢酸エチル/ヘキサンを 80ml まで加え混和後, 遠心分離(1000rpm, 10 分間)し上層を合わせ, ロータリーエバポレーターで濃縮乾固した。添加回収実験を行う場合は, 採取した試料 20g に農薬標準液を添加し, 同様に操作した。

2) 2,4,5-T のメチル化

濃縮乾固したものを 30 %メタノール/酢酸エチル 4ml で溶解し, その 2ml を分取した。これに 2M トリメチルシリルジアゾメタン/ヘキサン溶液 200 μl を加え, 15 分間室温で放置しメチル化した。

3) フロリジルカラム処理

メチル化終了後, ロータリーエバポレーターで濃縮乾固し, ヘキサン 2ml で溶解した。ヘキサン溶

液が著しく結晶化してしまいカラム処理の段階で目詰まりを起こす恐れのある場合は, 10 %食塩水 10ml を加えヘキサン 20ml で 2 回抽出したものを, 2ml に濃縮した。これを, フロリジルカラムに負荷し, ヘキサン 10ml で洗浄後, 30 %エーテル/ヘキサン 30ml で溶出した。

5) 試験溶液の調製

カラム溶出液をロータリーエバポレーターで濃縮乾固した。これをヘキサン 2ml で溶解し, キット付属の洗浄水 1ml を加え, ロータリーエバポレーターで溶媒を完全に留去した後, 10 分間超音波処理した。これを蒸留水で 10ml に定容した。この溶液を蒸留水でさらに 5 倍希釈し, キット付属の希釈液と等量混合し, 試験溶液とした。この試験溶液 1ml は, 試料 0.1g に相当する。

なお, ブランクには, キット付属の洗浄水を蒸留水で 50 倍希釈し, キット付属の希釈液と等量混合した溶液を用いた。

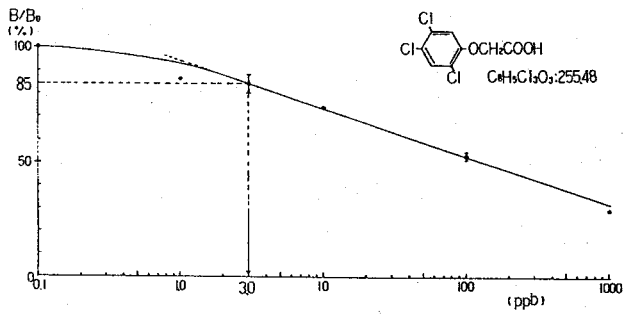
III 結果 及 び 考 察

1. 測定方法について

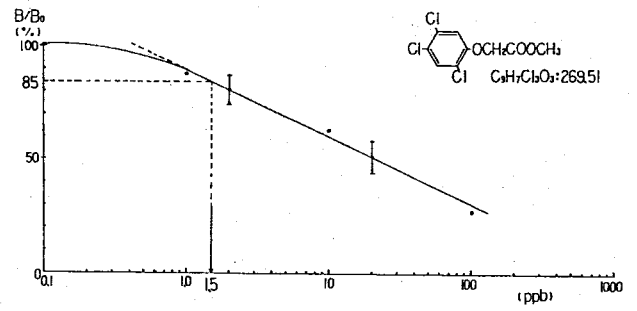
図 1 に, 対象農薬 11 種の検量線を作成した。また, B/B<sub>0</sub> 値が 80 %付近 (低濃度側) 及び 55 %付近 (高濃度側) の濃度について, 3 回測定したときの標準偏差及び変動係数を各農薬毎に求め, 表 1 にまとめた。

表 1 11 農薬を 3 回測定した時の標準偏差と変動係数

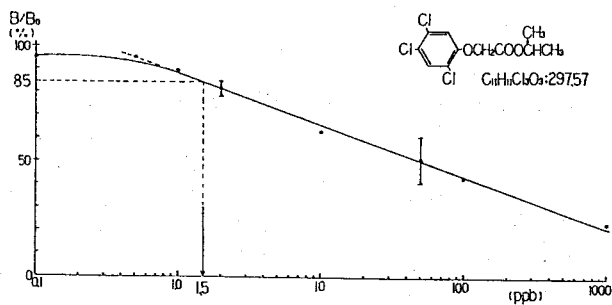
農 薬 名	試験溶液の濃度 (ppb)	B/B <sub>0</sub> 値の平均±標準偏差 (%)	変動係数 (%)
2,4,5-T	3	83.9 ± 3.8	4.5
	100	53.1 ± 1.6	3.0
2,4,5-T-メチルエステル	2	81.1 ± 6.4	7.9
	20	51.5 ± 7.1	13.8
2,4,5-T-イソプロピルエステル	2	81.6 ± 2.8	3.4
	50	51.3 ± 9.9	19.3
2,4,5-T-1-ブチルエステル	2	82.0 ± 2.0	2.4
	20	54.5 ± 5.2	9.5
2,4,5-T-2-ブチルエステル	2	82.1 ± 3.6	4.4
	30	54.9 ± 3.7	6.7
2,4,5-T-2-メチル-1-プロピルエステル	3	80.9 ± 4.2	5.2
	40	54.5 ± 5.3	9.7
2,4,5-T-1-オクチルエステル	8	81.0 ± 3.7	4.6
	100	60.2 ± 11.7	19.4
2,4,5-T-2-オクチルエステル	30	80.8 ± 5.2	6.4
	100	59.6 ± 1.1	1.8
2,4,5-T-イソオクチルエステル	40	83.2 ± 0.5	0.6
	300	50.3 ± 0.9	1.8
2,4,5-T-ブトキシエチルエステル	10	81.1 ± 2.8	3.4
	100	53.5 ± 4.0	7.5
2,4,5-T-2-エチルヘキシルエステル	4	83.0 ± 3.2	3.9
	200	54.7 ± 10.3	18.8



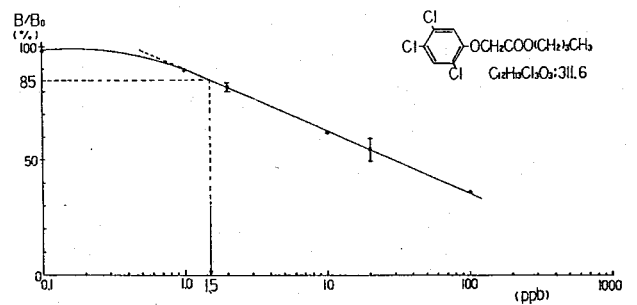
2,4,5-T



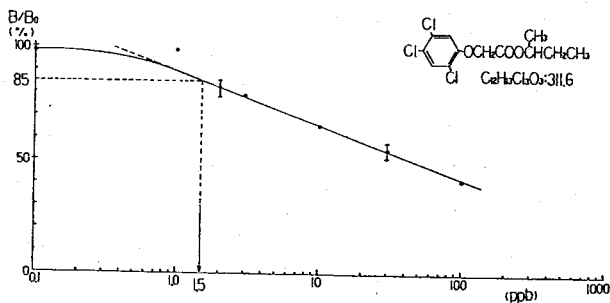
2,4,5-T-メチルエステル



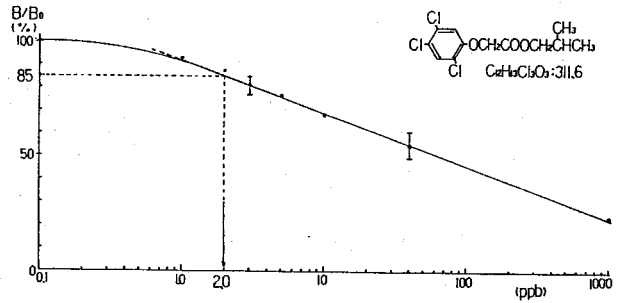
2,4,5-T-イソプロピルエステル



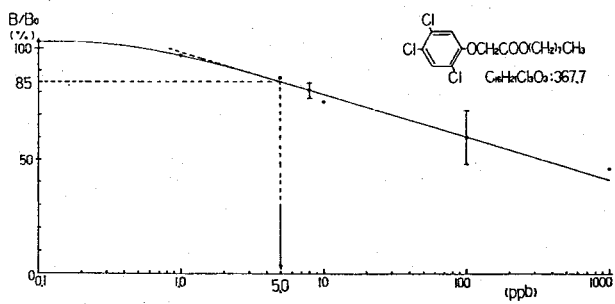
2,4,5-T-1-ブチルエステル



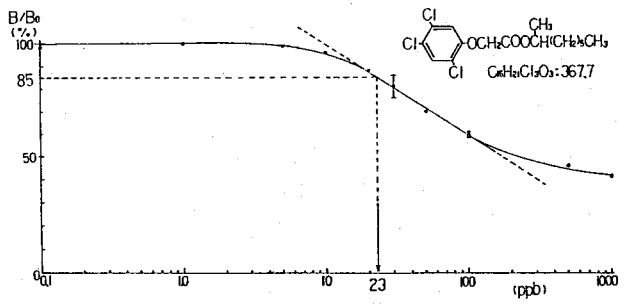
2,4,5-T-2-ブチルエステル



2,4,5-T-2-メチル-1-プロピルエステル



2,4,5-T-1-オクチルエステル



2,4,5-T-2-オクチルエステル

図 1-1 対象農薬の検量線

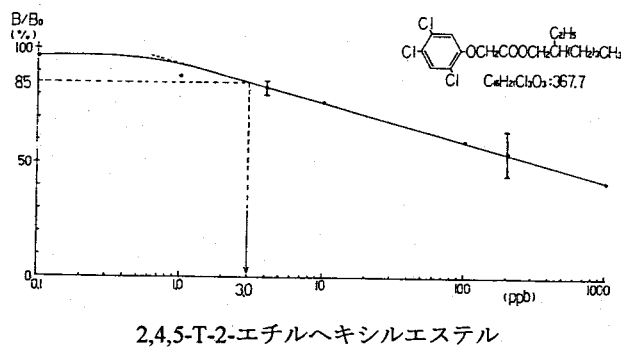
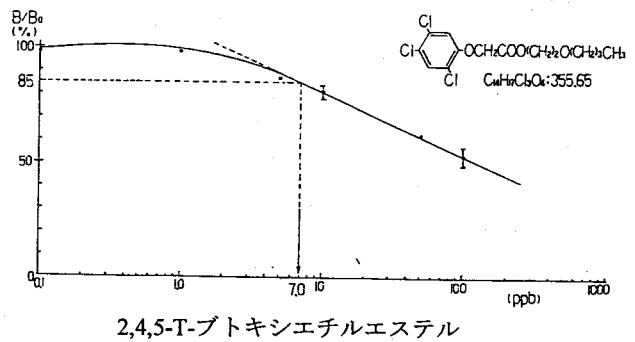
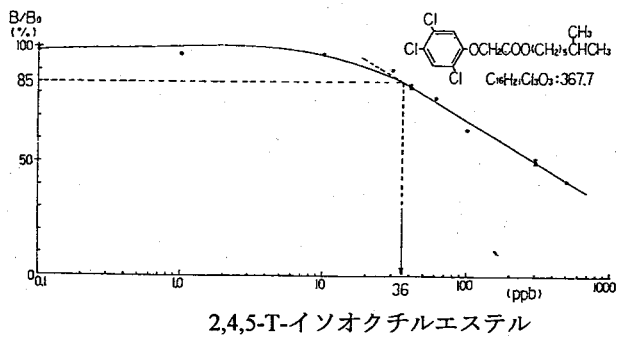


図 1-2 対象農薬の検量線

図 1 中の B/B<sub>0</sub> 値が 85 % 付近の濃度を比較してみると、イソオクチルエステルと 2-オクチルエステルの 2 農薬については、他の農薬と比較して感度が悪く 20ppb を超えていた。しかし他の 9 農薬は、1 ~ 7ppb の範囲にあり、感度にあまり差がなかった。

また表 1 に示すように、11 農薬を 3 回繰り返し測定した時の標準偏差は 0.5 ~ 11.7 %、変動係数は 0.6 ~ 19.4 % であった。11 農薬中変動係数が 10 % を超えていたものは、メチルエステルの 20ppb とイソプロピルエステルの 50ppb、1-オクチルエステルの 100ppb 及び 2-エチルヘキシルエステルの 200ppb の 4 種類で、いずれも高濃度側であった。これは、使用した測定キットが 2,4,5-T 及びそのエステル類を専用に測定するものではないために、農薬の種類によっては抗体との結合率に若干ばらつきがあるものと思われる。

シルベックス検出キットは、2,4,5-T 類の専用キット

ではないにも関わらず、一部のエステル類を除き 9 種類の 2,4,5-T 類に対して感度よく反応した。告示されている 2,4,5-T の試験法は、2,4,5-T のアルカリ塩やエステル類を測定対象としており、一度エステル類を 2,4,5-T に加水分解後エステル化して 2,4,5-T の含量を測定している。したがって、シルベックス検出キットを使用すれば、加水分解操作を行わずに 2,4,5-T 類を測定することが可能であると考えられた。

## 2. 操作別の農薬の回収率

### 1) 50 % 酢酸エチル/ヘキサンによる抽出率について

各農薬を酸性下で 50 % 酢酸エチル/ヘキサン抽出した時の抽出率を求めた。測定は、ECD-GC で行った。結果を表 2 に示した。その結果、2-エチルヘキシルエステルが 91.7 % と若干低い値ではあったが、いずれの農薬においても抽出率は 90 % 以上と良好であった。

表2 50%酢酸エチル/ヘキサンによる抽出率

農薬名	抽出率 (%)
2,4,5-T	106.1
2,4,5-T-メチルエステル	108.4
2,4,5-T-イソプロピルエステル	102.2
2,4,5-T-1-ブチルエステル	99.9
2,4,5-T-2-ブチルエステル	97.2
2,4,5-T-2-メチル-1-プロピルエステル	95.6
2,4,5-T-1-オクチルエステル	108.5
2,4,5-T-2-オクチルエステル	96.0
2,4,5-T-イソオクチルエステル	101.2
2,4,5-T-ブトキシエチルエステル	100.8
2,4,5-T-2-エチルヘキシルエステル	91.7

2) メチル化について

選択性の高いELISA法においても、妨害物質の除去は必要である。2,4,5-Tは酸型であり、他のエステル類と同時にカラム精製をすることは困難であるため、エステル化することを試みた。

告示法では、3フッ化ホウ素ブタノールを用いたブチルエステル化を採用しているが、この方法はブタノールを使用するためロータリーエバポレーターによる溶媒留去が難しく、一度抽出操作を行う必要がある。また、反応温度も90℃と高温である。しかし、トリメチルシリルジアゾメタンでメチル化すれば、ロータリーエバポレーターによる溶媒留去が可能であり、反応も室温で行うことができ、操作性がよい。そこで、2,4,5-Tをトリメチルシリルジアゾメタンを用いてメチル化し、同日かつ同一操作でのばらつき、及び操作日によるばらつきを求めた。操作日によるばらつきは、1日1回6日間にわたってメチル化を行って求めたものである。結果を表3に示した。

表3 2,4,5-Tのメチル化操作 (単位: %)

	メチル化反応率
同日かつ同一操作	92.5 ± 1.2 (n=6)
異日操作	92.8 ± 1.0 (n=6)
平均	92.6 ± 1.1 (n=12)

メチル化操作のばらつきは、いずれの場合も1%前後であった。また、エステル類をメチル化することで、エステル類がメチルエステルに交換されていないことを確認した。このように、トリメチルシリルジアゾメタンによるメチル化操作は、ばらつきも少なく、エステル類のエステル交換もなかったことから、トリメチルシリルジアゾメタンによるメチル化を行うこととした。この方法でメチル化すると、平均して92.6%の2,4,5-Tを安定してメチル化することができた。

3) フロリジルカラム処理について

フロリジルカラムを用いた時の対象農薬の溶出パターンを表4に示した。2,4,5-T及びブトキシエチルエステルを除く全ての農薬では、15%エーテル/ヘキサンでほぼ9割以上溶出していた。ブトキシエチルエステルは、15%エーテル/ヘキサンでは溶出しきれず、30%エーテル/ヘキサンで溶出させる必要があった。2,4,5-Tはどの溶媒を用いても溶出しなかった。また、ヘキサンでは、2-ブチルエステルとイソオクチルエステルが若干溶出していたが、いずれも1%未満であった。

そこで、2,4,5-Tをメチルエステルにエステル化後、フロリジルカラムに負荷し、ヘキサン10mlで洗浄後30%エーテル/ヘキサン30mlで溶出させることで、対象農薬全てを同時に溶出させることとした。

3. 試料からの試験溶液の調製方法について

8種類の農作物に対象農薬を添加し、添加回収実験を行った。各農薬の添加量は、2,4,5-T-イソオクチルエステル及び2,4,5-T-ブトキシエチルエステルについては、試験溶液のB/B<sub>0</sub>値が80%付近の濃度になるように添加した。それ以外の9農薬は、試験溶液のB/B<sub>0</sub>値が80%付近(低濃度側)及び55%付近の濃度(高濃度側)になるよう、2段階で添加した。いずれの農薬も添加しなかった場合のB/B<sub>0</sub>値を表5に、対象農薬別の各農作物における回収率を表6に示した。尚、2,4,5-Tの回収率は、メチルエステルの検量線からメチルエステルとしての濃度を求め、メチル化の平均反応率(92.6%)を考慮し換算した。

通常、目的物質が含まれていなければブランクと同様の発色度合いを示す。しかし、第1報<sup>8)</sup>で報告したように、クリーンアップが不十分であると、試料中のマトリックスが原因で、その吸光度はブランクの吸光度よりも低下し、目的物質が含まれていなくても見かけ上含まれているようにみえたり、再現性に欠けることがある。農作物を50%酢酸エチル/ヘキサン抽出しただけで試験溶液を調製したり、50%酢酸エチル/ヘキサン抽出後ヘキサン:アセトニトリル(1:3)でヘキサン/アセトニ

表4 フロリジルカラムを用いた溶出パターン

農薬名	溶出率 (%) ND: 0.1%					
	F1: ヘキサン 30ml	F2: 15%エーテル/ヘキサン 20ml	F3: 30%エーテル/ヘキサン 20ml	F4: 50%エーテル/ヘキサン 20ml	F5: 80%エーテル/ヘキサン 20ml	F6: エーテル 20ml
2,4,5-T	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2,4,5-T-メチルエステル	ND	89.6	6.9	0.3	0.1	0.1
2,4,5-T-イソプロピルエステル	ND	103.7	ND	ND	ND	ND
2,4,5-T-1-ブチルエステル	ND	102.2	0.2	ND	ND	ND
2,4,5-T-2-ブチルエステル	0.1	97.8	0.1	ND	ND	ND
2,4,5-T-2-メチル-1-プロピルエステル	ND	97.1	0.1	ND	ND	ND
2,4,5-T-1-オクチルエステル	ND	100.0	0.1	ND	ND	ND
2,4,5-T-2-オクチルエステル	ND	100.0	ND	ND	ND	ND
2,4,5-T-イソオクチルエステル	0.4	102.9	0.3	ND	ND	ND
2,4,5-T-ブトキシエチルエステル	ND	67.5	30.0	0.4	ND	ND
2,4,5-T-2-エチルヘキシルエステル	ND	98.8	0.5	0.1	ND	ND

トリル分配して試験溶液を調製する等、操作の単純化を試みたが、それだけではクリーンアップが不充分であった。

そこで、50%酢酸エチル/ヘキサン抽出後に2,4,5-Tのメチル化を行い、フロリジルカラム処理を行うことにした。このクリーンアップ方法では、表5に示すように、対象農薬無添加のB/B<sub>0</sub>値は農作物の種類に関わらず90%以上であり、吸光度の低下は見られなかった。

表5 対象農薬無添加の場合のB/B<sub>0</sub>値

農作物名	B/B <sub>0</sub> 値 (%)
トマト	99.9
白菜	93.6
玉葱	94.3
みかん	101.3
りんご	95.7
グレープフルーツ	97.1
小麦	93.6
小豆	95.7

また、表6に示した回収率を対象農薬別にみると、1-ブチルエステルや2-メチル-1-プロピルエステル、ブトキシエチルエステルで一部回収率が130%を超えるものはあったが、2-ブチルエステルや1-オクチルエステル及び2-エチルヘキシルエステルの3農薬を除けば、回収率は71~137%と概ね良好であった。

2-ブチルエステルや1-オクチルエステル及び2-エチルヘキシルエステルの一部には、回収率が70%に満たないものがあった。それらは、いずれも小麦或いは小豆に添加した場合であり、特に高濃度での添加に多かった。なかでも、1-オクチルエステルを小豆に20μg/20g添加したときの回収率が最も悪く50%に満たなかった。この原因は、クリーンアップが不充分なために、溶媒を水に置換する段階で水への溶解性が低下しているのではないかと考えられた。そこで、抽出後ヘキサン/アセトニトリル(1:3)分配操作を加えてみたが改善されなかった。

以上の結果より、野菜や果実においては十分に測定可能と思われた。小麦や小豆では、一部のエステルで回収率が悪く、今後クリーンアップ方法を検討する必要がある。

単位：%

表 6 対象農薬の各農作物における回収率

表 6-1

農作物名	2,4,5-T		2,4,5-T-メチルエステル		2,4,5-T-イソプロピルエステル		2,4,5-T-1-プロピルエステル		2,4,5-T-2-プロピルエステル	
	0.4 μg/20g	4 μg/20g	0.4 μg/20g	4 μg/20g	0.4 μg/20g	10 μg/20g	0.4 μg/20g	4 μg/20g	0.4 μg/20g	6 μg/20g
	トマト	113	99	112	110	130	85	134	96	90
白菜	113	102	112	99	114	109	103	110	99	91
玉葱	117	92	92	97	116	83	80	96	104	90
みかん	110	107	109	102	112	81	131	95	87	89
りんご	116	98	102	111	130	84	108	93	99	94
グレープフルーツ	95	91	101	114	115	110	112	83	84	103
小麦	98	84	104	107	111	130	119	92	115	121
小豆	116	112	102	109	122	101	108	86	117	66

表 6-2

農作物名	2,4,5-T-2-メチル-1-プロピルエステル			2,4,5-T-1-オクチルエステル			2,4,5-T-2-オクチルエステル			2,4,5-T-イソオクチルエステル			2,4,5-T-7-トキソクチルエステル			2,4,5-T-2-エチルヘキシルエステル						
	0.6 μg/20g	8 μg/20g	1.6 μg/20g	20 μg/20g	6 μg/20g	20 μg/20g	6 μg/20g	20 μg/20g	1 μg/20g	2 μg/20g	0.8 μg/20g	40 μg/20g	0.8 μg/20g	2 μg/20g	112	80	90	112	85	82	53	78
	トマト	100	99	93	95	111	77	91	137	112	121	121	121	112	109	100	81	85	82	53	77	53
白菜	121	118	112	104	95	116	119	109	80	132	99	82	80	90	100	81	85	82	53	77	53	78
玉葱	98	81	116	110	101	78	82	83	80	92	77	82	83	100	81	85	82	53	77	53	78	
みかん	81	118	128	102	113	86	122	87	80	92	77	82	83	100	81	85	82	53	77	53	78	
りんご	109	88	82	121	98	71	108	80	80	92	77	82	83	100	81	85	82	53	77	53	78	
グレープフルーツ	84	93	116	121	101	77	79	132	99	92	77	82	83	100	81	85	82	53	77	53	78	
小麦	123	116	68	55	78	73	110	92	77	77	77	82	83	100	81	85	82	53	77	53	78	
小豆	137	121	95	45	87	74	126	121	116	116	116	116	116	116	116	116	116	116	116	116	116	116



## IV ま と め

シルベックス検出キットを用いて, 2,4,5-T 及びそのエステル類 11 種を対象に, 農産物中の残留農薬分析法の検討を行った。

試料は, 塩酸酸性下でアセトン存在下 50 %酢酸エチル/ヘキサン溶液で抽出し, トリメチルシリルジアゾメタンでメチル化しフロリジルカラム処理を行い試験溶液とした。この方法で試験溶液を調製すると, 2,4,5-T はメチルエステルとして, エステル類はそれぞれのエステルの形で抗体と反応する。

添加回収実験を行ったところ, 小麦と小豆以外の農作物では, 対象農薬の添加量の関わらず回収率は良好で, 71 ~ 137 %であったことから, 検査法としては充分活用できると思われた。この方法で試験溶液を調製したときの対象農薬の検出下限を表 7 に示した。2,4,5-T の場合は, メチルエステルの検出下限を, メチル化の反応率 (92.7 %) を考慮した上で 2,4,5-T の濃度に換算したものである。

農薬の残留基準では, 2,4,5-T 類は, 全ての農作物に対して不検出と設定されている。不検出と判断される濃度は, 2,4,5-T 類の存在形態に関わらず, 2,4,5-T として 0.05ppm である。2,4,5-T として 0.05ppm が確認できないものは, 2-オクチルエステルとイソオクチルエステルの 2 農薬であった。しかし, 過去に販売されていた 2,4,5-T 類の形態は, 2,4,5-T やイソプロピルエステル, ブトキシエステルが知られており, 2-オクチルエステルやイソオクチルエステルとして残留している可能性は低いと考えられる。また同様に, 小麦や小豆で回収率の悪かった 2-ブチルエステルや 1-オクチルエステル及び 2-エチルヘキシルエステルの形態で残留していることも考えにくい。以上のことより, この方法は充分 2,4,5-T 類の測定に活用できると考えている。

表 7 対象農薬の検出下限 単位: ppm

農 薬 名	試料換算
2,4,5-T	0.015 ( 0.015 )
2,4,5-T-メチルエステル	0.015 ( 0.014 )
2,4,5-T-イソプロピルエステル	0.015 ( 0.013 )
2,4,5-T-1-ブチルエステル	0.015 ( 0.012 )
2,4,5-T-2-ブチルエステル	0.015 ( 0.012 )
2,4,5-T-2-メチル-1-プロピルエステル	0.020 ( 0.016 )
2,4,5-T-1-オクチルエステル	0.050 ( 0.034 )
2,4,5-T-2-オクチルエステル	0.23 ( 0.16 )
2,4,5-T-イソオクチルエステル	0.36 ( 0.25 )
2,4,5-T-ブトキシエステル	0.070 ( 0.050 )
2,4,5-T-2-エチルヘキシルエステル	0.030 ( 0.021 )

※ カッコ内は, それぞれのエステル類の検出下限を 2,4,5-T の濃度に換算した値である。

## 文 献

- 1) 植村振作, 他編: 農薬毒性の事典, 三省堂, 1988
- 2) 津田ゆかり, 他: 食品衛生学雑誌, Vol. 33, No. 5, 458 - 466, 1992
- 3) Janet S. Colliss: Analytical Proceedings, Vol. 30, No. 2, 74 - 75, 1993
- 4) W. Harvey Newsome, Jupiter M. Yeung, and Peter G. Collins: Journal of AOAC International, Vol. 76, No. 2, 381 - 386, 1993
- 5) Rodney J. Bushway, Barbara E.S. Young, Lance R. Paradis, Lewis B.Perkins, Susan K.Martin, and Myrna P.Brown: Journal of AOAC International, Vol.77, No. 5, 1237 - 1243, 1994
- 6) Rodney J. Bushway, Barbara E.S. Young, Lance R. Paradis, and Lewis B.Perkins: Journal of AOAC International, Vol. 77, No. 5, 1243 - 1248, 1994
- 7) 高橋義行, 他: 関東東山病害虫研究会年報第 42 集, 1995
- 8) 江崎好美, 他: 福岡市衛生試験所報, Vol.21, 71 - 81, 1996