

# HPLCによる玄米中のクミルロン、ダイムロン 及びアジムスルフロンの迅速分析法の検討

長律子<sup>1)</sup>

## Rapid and Simultaneous Determination Method on the Analysis of Cumyluron, Dymron & Azimsulfuron in Brown Rice by HPLC

Ritsuko CHO

### 要 旨

告示法で高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による測定が定められている農薬のうち、残留基準の 8 次及び 9 次改正で米のみに基準の設定されているクミルロン、ダイムロン、アジムスルフロンの 3 農薬 (告示法では 3 種類の検査法で検査される) について、当研究所で開発した HPLC-UV による迅速分析法を一部改良して適応するかどうかを検討した。

検討対象とした玄米 10g に各農薬 1.0  $\mu$ g を添加したときの回収率は 77.7 ~ 86.3% で、相対標準偏差 (RSD) は 0.7% ~ 3.5% と良好であった。各農薬に対する試料由来の妨害はみられなかった。

**Key Words :** 高速液体クロマトグラフィー High Performance Liquid Chromatography, HPLC  
玄米 brown rice, クミルロン cumyluron, ダイムロン dymron  
アジムスルフロン azimsulfuron

### I はじめに

従来 26 農薬について定められていた残留基準は、平成 4 年から平成 11 年までの間に 9 次にわたって改正が行われ、現在 199 農薬に基準が設定されている<sup>1)</sup>。これらの農薬は食品衛生法により分析法が定められている (以下「告示法」) が、測定に HPLC を採用している分析法では抽出、精製、測定法が多岐にわたっており、迅速且つ省力化を目的とした多成分分析法の開発が望まれるところである<sup>2)~4)</sup>。

筆者は前報<sup>5)</sup>で 6 次及び 7 次改正で基準が設定された農薬を中心とした 14 農薬について同時迅速分析法を検討したが、8 次及び 9 次改正で基準の設定された農薬のうち米のみに基準の設定されているクミルロン、ダイムロン、アジムスルフロンについて、この方法を一部改良してその適応性を検討した。

### II 実験方法

#### 1. 試料

添加回収実験には福岡市内に流通する玄米を用いた。

#### 2. 試薬

・農薬標準品：クミルロン、アジムスルフロンは林純薬工業(株)製、ダイムロンは和光純薬工業(株)製の農薬標準品を用いた。

・各農薬標準原液：各標準品 15mg を精秤し、アセトニトリル 30mL に溶解した。

・農薬標準混液：各農薬標準原液をアセトニトリルで 10ppm となるように調製し、混合溶液を作製した。

・各種有機溶媒：酢酸エチル、アセトン、シクロヘキサン、ヘキサン、アセトニトリル、ジエチルエーテル (以下「エーテル」) は関東化学(株)製、残留農薬試験用を用いた。ただし HPLC 移動相の調製用アセトニトリルは関東化学(株)製、高速液体クロマトグラフィー用を用いた。

1. 福岡市保健環境研究所 理化学課  
(現所属：福岡市中央区 衛生課)

・無水硫酸ナトリウム：和光純薬工業(株)製，残留農薬試験用を用いた。

・5%含水フロリジル：Floridin Co.製，Floridil 60～100 mesh Lot No.TWQ6871 を500℃で1時間加熱処理したものに重量あたり5%となるように蒸留水を加え，室温で一夜放置した後使用した。

・フロリジルカラム：内径10mm，長さ150mmのカラム管に5%含水フロリジル3gをヘキサンで湿式充填し，ヘキサン30mLで洗浄後使用した。

### 3. 装置及び運転条件

・高速液体クロマトグラフ

ポンプ：JASCO PU-980 検出器：JASCO UV-970

オートサンプラー：JASCO AS-950

カラム：GL Sciences 社製，Inertsil ODS-2(4.6mmi.d.×150mm)

流速：1.0mL/min 検出波長：215nm, 245nm

移動相：水-CH<sub>3</sub>CN(60:40)(pH3)

データ処理装置：JASCO 807-IT

・ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)システム

ポンプ：ウォーターズ社製，Model 501

注入口：REHEODYNE 社製，3725i-038

カラム：SHODEX CLN-Pac EV-2000AC+EV-G AC

フラクションコレクター：ADVANTEC SF-3120

分取条件

試料注入量：5mL 流量：4.0mL/min

分画容量：25mL 分取本数：4本

待機時間：16分30秒

### 4. 試験溶液の調製

重量あたり2%となるようにりん酸を加えながら粉碎した<sup>6)</sup>試料10gに無水硫酸ナトリウムを25g加え，さらに酢酸エチル50mLを加えて1分間ホモジナイズし，上清を無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過した。残渣に酢酸エチル50mLを加えホモジナイズし，3000rpmで10分間遠心分離し，上清を無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過し，酢酸エチル層を合わせ，濃縮乾固した。

これにアセトン-シクロヘキサン(1:4)を加えて10mLに定容した後，孔径0.45μmのメンブランフィルターでろ過し，5mLをGPCに負荷した。GPC溶出液の60～160mLの画分を分取，濃縮乾固し，これにアセトン-ヘキサン(1:9)2mLを加えて溶解し，抽出液とした。

フロリジルカラムに，抽出液1mlを負荷し，エーテル-ヘキサン(1:3)30mLで洗浄した後，アセトン-ヘキサン(1:9)30mLでクミルロン(一部)，ダイムロンを溶出した(画分①)。さらにアセトニトリル-水(97:3)40mL

でクミルロン(一部)，アジムスルフロンを溶出した(画分②)。

画分①，②を濃縮乾固した後，残留物をアセトニトリル1mLに溶解し，HPLC用試験溶液とした。

各試験溶液20μLを高速液体クロマトグラフに注入し，検出波長をクミルロンは215nm，ダイムロン，アジムスルフロンは245nmとして各農薬の定性，定量を行った。

以上の試験操作の概要を図1に示す。

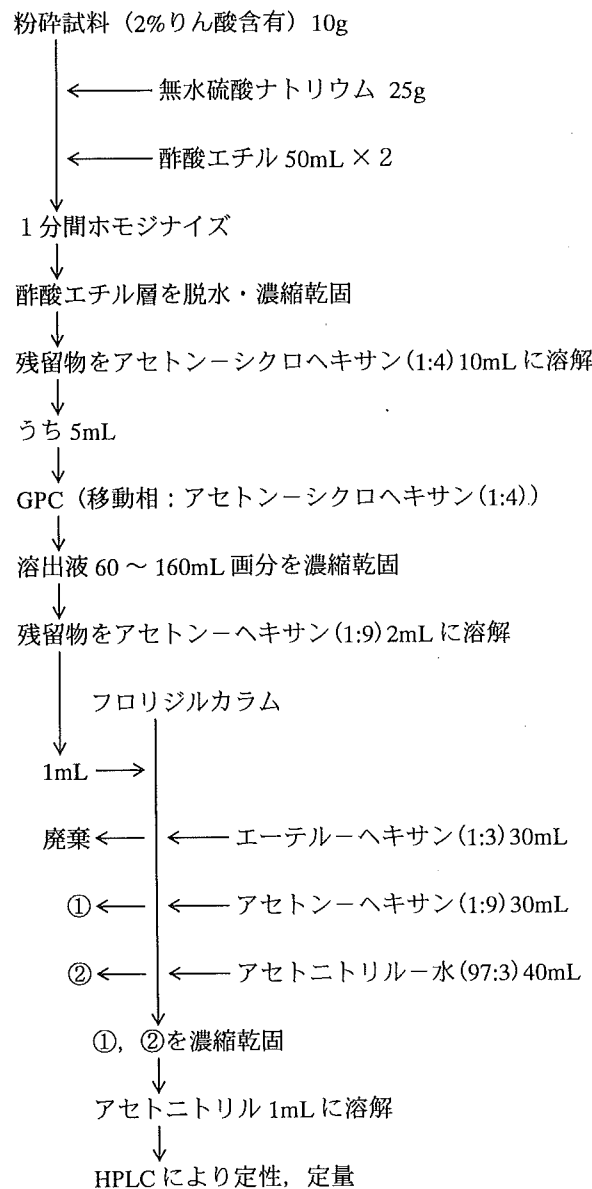


図1 3農薬の迅速分析法のフローシート

### 5. 添加回収実験

試料10gに農薬標準混液を0.1mL(試料中0.1ppm相

当) 加え, 1時間放置した後, 本法に従って抽出, 精製し, HPLCで測定して回収率を求めた.

### III 結果と考察

#### 1. GPC分取画分

前報では抽出液の精製を大豆のように油分の多い試料についてのみアセトニトリル-ヘキサン分配により行うこととしていたが, 自動化が可能でフロリジルカラムへの負担を軽減することができる GPC<sup>7)</sup>による精製を行うこととし, アセトン-シクロヘキサン(1:4)での3農薬のGPCからの溶出状況を求めた. 結果を表1に示す.

3農薬は全て60~160mLの画分で溶出したことから, 分取画分を60~160mLとすることにした.

表1 3農薬のGPCからの溶出状況

農薬名	分取画分(mL)			
	60   85	85   110	110   135	135   160
クミルロン	73	27		
ダイムロン	96	4		
アジムスルフロン			71	29

#### 2. HPLC検出波長検討

公定法では検出波長がクミルロンは215nm, ダイムロンが243nm, アジムスルフロンが250nmとなっているが, 215nmではアジムスルフロンに妨害ピークが重なるため, クミルロンのみ215nmで測定し, ダイムロン, アジムスルフロンは妨害のない245nmで同時分析することとした.

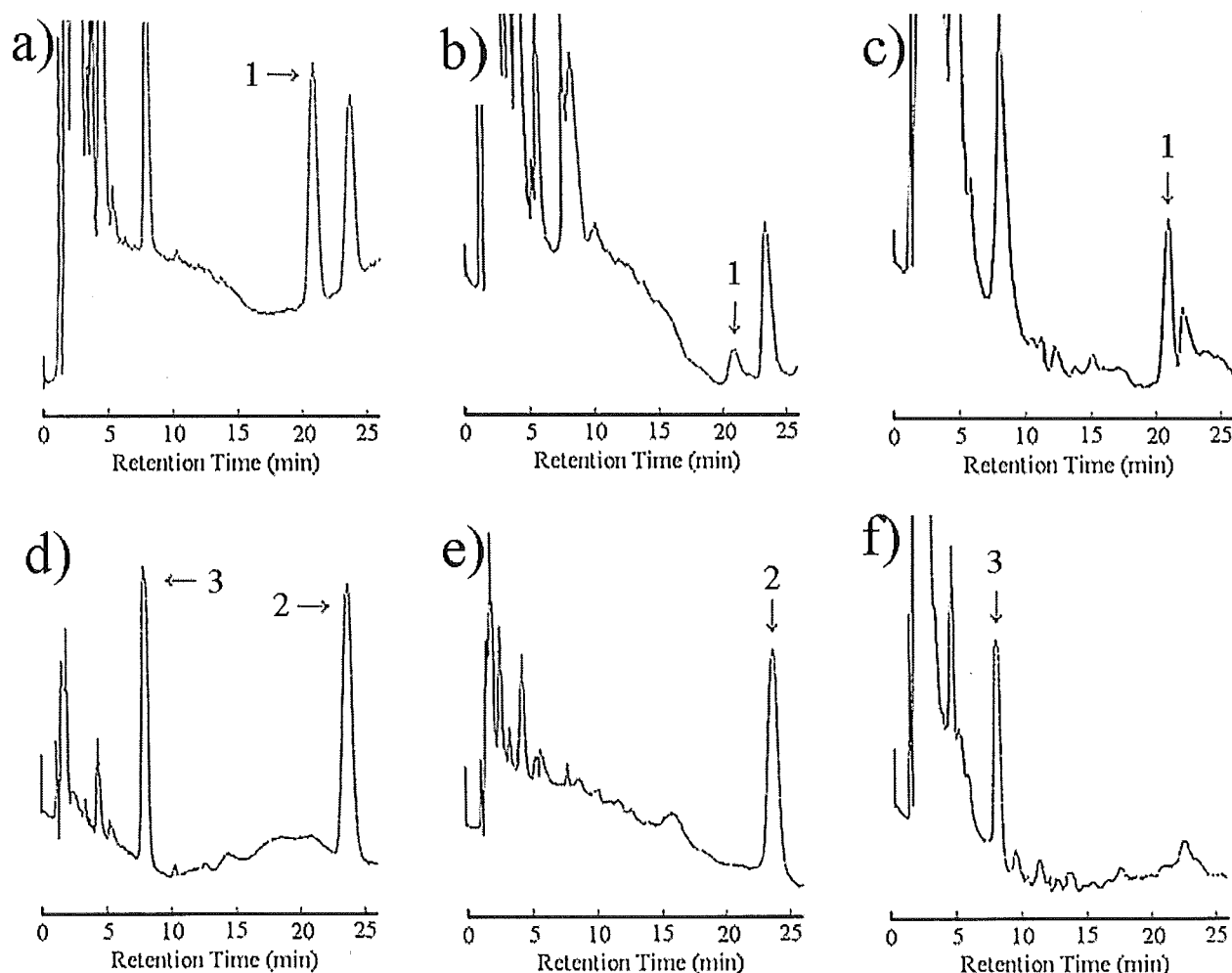


図2 農薬標準混液0.25ppmと玄米10gに各農薬1.0 $\mu$ g添加したときのHPLCクロマトグラム  
a),d): 農薬標準混液0.25ppm, b),e): 玄米アセトン-ヘキサン(1:9)画分, c),f): 玄米アセトニトリル-水(97:3)画分  
検出波長; a),b),c): 215nm, d),e),f): 245nm  
ピーク No.; 1:クミルロン, 2:ダイムロン, 3:アジムスルフロン

## 2. 農産物からの回収

玄米にそれぞれ試料中濃度として 0.1ppm となるように添加した各農薬の回収率と RSD を表 2 に、農薬標準混液 0.25ppm と玄米 10g に各農薬 1.0  $\mu$ g 添加したときの HPLC クロマトグラムを図 2 に示す。

表 2 玄米 10g に各農薬 1.0  $\mu$ g 添加したときの回収率と RSD (n=4)

農薬名	R.T. (min)	画分	回収率 (%)	RSD (%)
クミルロン	20.8	①	12.7	1.3
		②	67.7	
		計	80.4	
ダイムロン	23.6	①	86.3	0.7
アジムスルフロン	7.9	②	77.7	3.5

3 農薬とも回収率は 80%前後と高く、RSD も全て 4%以下と良好であった。これらの農薬に対する試料由来の妨害ピークはみられなかった。

## IV ま と め

クミルロン、ダイムロン、アジムスルフロンについて、当研究所で開発した HPLC-UV による迅速分析法を改良してその適応性を検討した。

試料から酢酸エチルで各農薬を一斉抽出したのち、GPC による精製、さらにフロリジルカラムによる精製を行い HPLC-UV による測定を行った。

玄米 10g に各農薬 1.0  $\mu$ g 添加したときの回収率は 77.7 ~ 86.3%で、RSD は 0.7 ~ 3.5%であった。また、これらの農薬に対する試料由来の妨害ピークはみられなかった。

本法により、公定法では 3 種類の方法により検査しなければならない農薬を同時に迅速に測定することができた。今後は HPLC で測定しなければならない他の農薬についても本法の適応性を検討し、効率的な検査法の確立に努めたい。

## 文 献

- 1) 厚生省告示第 237 号(1999)
- 2) 残留農薬簡易分析法開発検討委員会：食品衛生研究 45, 9, 31 ~ 49, 1995
- 3) 残留農薬簡易分析法開発検討委員会：食品衛生研究 47, 5, 27 ~ 41, 1997
- 4) 残留農薬簡易分析法開発検討委員会：食品衛生研究 47, 6, 27 ~ 41, 1997
- 5) 長律子：福岡市保健環境研究所報, 23, 94 ~ 99, 1998
- 6) 長南隆生：食衛誌, 33, 543 ~ 547, 1992
- 7) 厚生省生活衛生局長通知 “残留農薬迅速分析法の利用について” 平成 9 年 4 月 8 日, 衛化第 43 号(1997)