

玄米中のインダノファンの残留実態調査

畑野 和広¹⁾

Indanofan Residue Survey on Domestic Brown Rice in the Market of Fukuoka City

Kazuhiro Hatano

要 旨

厚生省の委託事業「平成12年度食品中残留農薬実態調査」において、本市が担当したインダノファンの分析方法及び検査結果について報告する。分析方法は、厚生省から提示された環境庁の告示法に準じて行った。また、本市で採用している一斉分析法（以下一斉分析法という。）への適応性についても併せて検討を行った。

玄米にインダノファン 0.1ppm 添加したときの回収率は、環境庁告示法が 94.5%、一斉分析法が 99.1%で、相対標準偏差(RSD)はそれぞれ、2.16%及び0.34%といずれも良好であった。

両法により、福岡市内を流通する玄米 15 検体について検査を行った結果、いずれの検体からもインダノファンは検出されず、試料由来成分による妨害も見られなかった。

Key Words : 高速液体クロマトグラフィー High Performance Liquid Chromatography, HPLC
インダノファン indanofan, 玄米 brown rice

I はじめに

インダノファンは、ノビエをはじめとする水田の一年生雑草に対して優れた除草効果を有し、水稲用除草剤として用いられている¹⁾。今回、厚生省の委託事業「平成12年度食品中残留農薬実態調査」に参画し、インダノファンの分析方法について検討し、玄米中の残留実態について調査したので、その結果について報告する。

II 実験方法

1. 試料

福岡市内に流通する国産玄米を用いた。

2. 標準品及び試薬

・インダノファン標準品：林純薬工業社製残留農薬試験用を用いた。

・インダノファン標準原液：インダノファン標準品15mgを精秤し、アセトンで30mlに定容した。

・インダノファン標準液：インダノファン標準原液をメタノール：蒸留水(13:7)で段階的に希釈し、0.05~1mg/L溶液を調整した。

・アセトニトリル及び蒸留水：関東化学社製高速液体クロマトグラフ用を用いた。

・ジエチルエーテル、アセトン及びn-ヘキサン：関東化学社製残留農薬試験用(300倍検定品)を用いた。

・シリカゲルミニカラム：varian社製BOND ELUT Si(500mg)をn-ヘキサン10mlで洗浄して用いた。

・フロリジル：和光純薬工業社製 60~100meshを用いた。

・5%含水フロリジル：フロリジルを450℃で1時間加熱後、130℃で1時間冷却し、フロリジル重量の5%のヘキサン洗浄水を加えよくふり混ぜ、48時間以上放置したものを用いた。

・フロリジルカラム：内径10mm、長さ150mmのガラスカラムに5%含水フロリジル3gをn-ヘキサンで湿式充填し、無水硫酸ナトリウムを約1cm積層後、n-ヘキサン30mlで洗浄して用いた。

1. 福岡市保健環境研究所 理化学課(現所属：衛生化学部門)

3. 装置の条件

・高速液体クロマトグラフ

機種：HEWLETT PACKARD社製 SERIES1100

カラム：ナカライテック社製 COSMOSIL 3C18-MS-II

(4.6mm i. d. ×100mm)

カラム温度：40℃

移動相：メタノール-水(13:7)

流速：0.4ml/min

検出波長：227nm

注入量：40 μl

・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

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

移動層：シクロヘキサン-アセトン(4:1)

流速：4ml/min

4. 試験溶液の調整

1) 環境庁告示法に準じた方法

粉碎試料10gにアセトニトリル50ml加え1分間ホモジネートした後、上清をろ紙5Aでろ過した。残さにアセトニトリル50mlを加え同様に操作し、ろ液を合わせアセトニトリル飽和n-ヘキサン50mlでニトリル分配を行った。残ったn-ヘキサン層についてもヘキサン飽和アセトニトリル100mlを加え同様に分配し、アセトニトリル層を合わせ濃縮乾固した。残留物をn-ヘキサン：ジエチルエーテル(49:1)5mlに溶解し、シリカゲルミニカラムに負荷し、n-ヘキサン：ジエチルエーテル(49:1)15mlで洗浄後、n-ヘキサン：ジエチルエーテル(17:3)15mlで溶出した。溶出液を濃縮乾固し、メタノール：水(13:7)2mlに溶解し、0.2 μmメンブランフィルターでろ過し試験溶液とした。

2) 一斉分析法

粉碎試料20gにアセトニトリル100mlを加え1分間ホモジネートした後、上清をろ紙5Aでろ過した。残さにアセトニトリル100mlを加え同様に操作し、ろ液を合わせ濃縮乾固した。残留物をシクロヘキサン：アセトン(4:1)10mlで溶解し、0.45 μmメンブランフィルターでろ過後、5mlをGPCに負荷した。シクロヘキサン：アセトン(4:1)の64-180ml画分を分取し濃縮乾固後、残留物をn-ヘキサン：ジエチルエーテル(94:6)3mlに溶解し、フロリジルカラムに負荷した。n-ヘキサン：ジエチルエーテル(94:6)20mlで洗浄後、n-ヘキサン：ジエチルエーテル(85:15)30ml、n-ヘキサン：アセトン(92:8)30mlで順次溶出した。溶出液を合わせ濃縮乾固し、メタノール：水(13:7)2mlに溶解し、0.2 μmメンブラン

フィルターでろ過し試験溶液とした。

III 結果及び考察

1. 検量線の直線性

図1に示したように、標準液 0.05 ~ 1.0mg/L の濃度範囲で相関係数 0.99996 と良好な直線性が得られた。

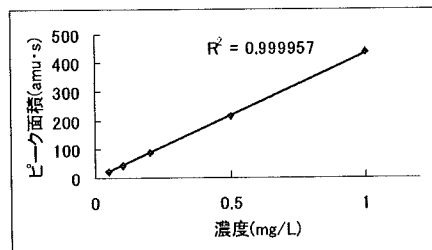


図1 インダノファンの検量線

2. 精製方法の検討

まず、環境庁告示法に準じて、シリカゲルミニカラムによる精製方法について検討を行った。インダノファン5 μgをシリカゲルミニカラムに負荷したときの溶出状況を表1に示した。

表1 シリカゲルミニカラムによる溶出状況

溶出画分	回収率(%)
n-ヘキサン：ジエチルエーテル(49:1)洗浄液 15ml	0.0
n-ヘキサン：ジエチルエーテル(17:3) 0-5ml	24.5
n-ヘキサン：ジエチルエーテル(17:3) 5-10ml	74.5
n-ヘキサン：ジエチルエーテル(17:3) 10-15ml	1.0
n-ヘキサン：ジエチルエーテル(17:3) 15-20ml	0.0

n-ヘキサン：ジエチルエーテル(49:1)15mlの洗浄液には溶出は見られず、n-ヘキサン：ジエチルエーテル(17:3)15mlで完全に回収された。

次に、現在、当研究所においては119の残留農薬について、GPC及びフロリジルカラムにより精製し、GC(ECD,FPD,NPD)を用いて一斉分析²⁾を行っているが、インダノファンについても本前処理方法が適応できるかについて検討を行った。

表2 GPCによる溶出状況

溶出画分	回収率(%)
0-100ml	0.0
100-120ml	71.4
120-140ml	28.6
140-160ml	0.0

インダノファン 4 μ g を GPC に負荷したときの溶出状況を表 2 に示したが、100-120ml の画分に 71.4%、120-140ml の画分に 28.6% が溶出し、一斉分析法（分取画分 64-180ml）に適応可能であった。

また、一斉分析法と同条件でインダノファンを 2 μ g フロリジルカラムに負荷したときの溶出状況を表 3 に示したが、n-ヘキサン：ジエチルエーテル(85:15)画分に 10.3%、n-ヘキサン：アセトン(92:8)画分に 89.7% が溶出し、一斉分析法に適応可能であった。

表 3 フロリジルカラムによる溶出状況

溶出画分	回収率(%)
n-ヘキサン：ジエチルエーテル(94:6) 20ml	0.0
n-ヘキサン：ジエチルエーテル(85:15) 30ml	10.3
n-ヘキサン：アセトン(92:8)	30ml 89.7
n-ヘキサン：アセトン(1:1)	30ml 0.0

3. 添加回収試験

玄米にインダノファンを 0.1ppm 添加し、環境庁の告示法及び一斉分析法を用いた場合の回収率及び相対標準偏差(RSD)を表 4 に示した。

表 4 回収率及び RSD (n=5)

分析方法	回収率(%)	RSD(%)
環境省告示法	94.5	2.16
本市一斉分析法	99.1	0.34

環境庁の告示法及び一斉分析法のいずれにおいても、回収率はそれぞれ、94.5%及び 99.1%、RSD も 2.16%及び 0.34%と良好であった。

4. 実態調査結果

福岡市内に流通する玄米 15 検体について、環境庁の告示法及び一斉分析法の両法を用いてインダノファンの検査を行った結果、いずれの検体からもインダノファンは検出されなかった。

また、図 2 に玄米中のインダノファンのクロマトグラムを示したが、両法のいずれにおいても試料由来の妨害ピークの影響は見られなかった。

IV ま と め

環境庁の告示法及び本市が採用している一斉分析法について、インダノファンの分析方法の検討を行った結果、回収率はそれぞれ 94.5%及び 99.1%、RSD%も 2.16%及

び 0.34%とともに良好な結果が得られ、妨害ピークの影響も見られなかった。

また、両法により、福岡市内に流通する玄米 15 検体について、インダノファンの検査を行った結果、いずれの検体からもインダノファンは検出されなかった。

通常業務においてインダノファンの検査を行う場合、一斉分析法を活用し濃縮試料の一部を用いることにより、かなりの操作の省力化がはかれるものと思われた。

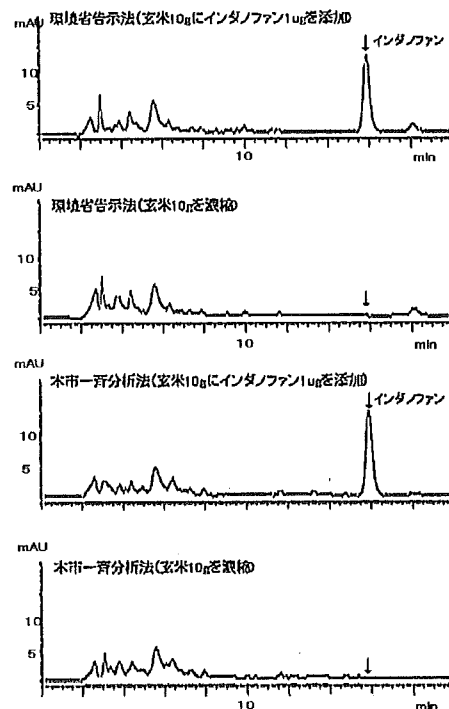


図 2 玄米中のインダノファンのクロマトグラム

文 献

- 1) 社団法人農協協会：農業協同組合新聞
- 2) 小林英樹，江頭 勝，西田政司：福岡市保健環境研究所報，25，134～137，2000