

GCによる農産物中の残留農薬の多成分分析法（Ⅱ） — Envi-Carb/NH₂ カートリッジカラム精製による 有機窒素系農薬の分析 —

西田政司¹

Multiresidue Analysis of Pesticides in Agricultural Products by GC（Ⅱ） — Organonitrogen Pesticides Analysis Using Envi-Carb/NH₂ Cartridge Column Cleanup —

Seiji NISHIDA

Summary

A method for the multiresidue analysis of 68 organonitrogen pesticides in agricultural products by GC-NPD using Envi-Carb/NH₂ cartridge-column cleanup was developed. The pesticides in cereals and pulse were extracted with acetonitrile, and those in vegetables and fruits were extracted with ethyl acetate. The fats in the extract were partitioned between acetonitrile and n-hexane. Acetonitrile and ethyl acetate layer were evaporated to dryness, and the residue was filled up to 10mL with 6% ether-hexane. Two mL of the solution were evaporated to dryness, and dissolved with 2mL of 25% toluene-acetonitrile, then cleaned up with Envi-Carb/NH₂ cartridge column. The pesticides were eluted from the column with 20mL of 25% toluene-acetonitrile. The elution was evaporated to dryness, and dissolved with 1mL of 1% acetone-hexane, and the pesticides were determined by GC-NPD. Recoveries of 56 pesticides added to brown rice, soybean, cabbage, onion and orange at 0.025 ~ 0.2 µg/g were 67 ~ 110%, except acetamiprid, cafenstrole, chinomethionate, clofentezine, cyromazine, diclofluanid, oxamyl, pyrimidifen and tricyclazole. And dimethenamid, flutolanil and uniconazole P could not be analysed in some of the agricultural products in this method.

Key Words : Envi-Carb/NH₂ カートリッジカラム Envi-Carb/NH₂ cartridge column, 有機窒素系農薬 organonitrogen pesticide, 農産物 agricultural products, ガスクロマトグラフィー GC

I はじめに

当所では現在、農産物中の有機窒素系農薬について、アセトニトリルまたは酢酸エチルで抽出後、5%含水フロリジル(FLO)カラムで4画分に分画し、GC-NPDで測定している。しかし、画分が多いため一回の検査(約20件程度)で昼夜運転による測定に3日以上を要している。

そこで、分析の前処理に要する時間とGCによる測定時間の短縮を目的として、農産物の抽出液をEnvi-Carb/NH₂カートリッジカラムで精製し、有機窒素系の68農薬をGC-NPDで分析する方法を検討したの

で、その結果を報告する。

II 実験方法

1. 試薬

農薬標準試薬：和光純薬工業(株)、林純薬工業(株)、Dr. Ehrenstorfer GmbH 社、Riedel de Haen 製残留農薬分析用標準試薬 10 ~ 20mg をトルエン又はアセトン 10 ~ 20mL に溶解し、1000mg/L 標準原液を調製した。

上記農薬標準原液を保持時間が異なるよう3グループに分けて混合標準液(2.5 ~ 20mg/L)を調製した。

混合標準液 A：ピリミカルブ 2.5mg/L、オキサミル、イソプロカルブ、フェノブカルブ、ピリメタニル、シメトリン、シプロジニル、シアナジン各 5mg/L、クロルブ

¹福岡市保健環境研究所 福岡市中央区地行浜 2-1-34

(現所属：福岡市下水道局水質管理課)

ロファム、トリフルミゾール代謝物、エスプロカルブ、カルバリル、トリフルミゾール、プレチラクロール、ウニコナゾール P、ミクロブタニル、ピリミノバックメチル E、ピリミノバックメチル Z、テニルクロール、エトキサゾール、メフェナセツ、ピリダベン各 10mg/L

混合標準液 B：トリフルラリン、ベンダイオカルブ、シロマジン、ジメテナミド、アラクロール、チオベンカルブ、テトラコナゾール、ペンディメタリン、ペンコナゾール、キノメチオネート、パクラブトラゾール、ヘキサコナゾール、クレソキシムメチル、フルシラゾール、シプロコナゾール、クロルフェナピル、トリシクラゾール、ジフルフェニカン、テブコナゾール、ピリブチカルブ、フェナリモル、アセタミプリド、ピリミジフェン各 10mg/L、クロフェンテジン 20mg/L

混合標準液 C：ジクロフルアニド 10mg/L、イプロジオン代謝物、ペンシクロン、メタベンズチアズロン、ターバシル、ジエトフェンカルブ、メトラクロール、トリアジメノール、ブタクロール、クロルフルアズロン、フルトラニル、チフルザミド、フルジオキソニル、メプロニル、プロピコナゾール、ピラフルフェンエチル、レナシル、イプロジオン、シハロホップブチル、ビテルタノール、カフェンストロール、ジフェノコナゾール各 20mg/L

n-ヘキサン、アセトン、アセトニトリル、酢酸エチル、トルエン、無水硫酸ナトリウム：市販の残留農薬分析用 Envi-Carb/NH₂ カートリッジカラム：SPELCO, Envi-Carb(500mg)/NH₂ (500mg), 3mL, Tube.

2. GC測定条件

GC-NPD：AGILENT TECHNOLOGIES 6890N,
カラム：RESTEK Rtx-CLPesticides(0.32mm i.d.×30m, 膜厚 0.25 μm),
カラム温度：60 °C(2 分)→20 °C/分→160 °C→7 °C/分→300 °C(5 分),
注入口温度：220 °C,
検出器温度：300 °C,
ガス流量：定流量 2.3mL/分(60 °C),
注入量：3.0 μL,
注入方法：スプリットレス

3. 検体

農産物中の残留農薬を検査する時 GC クロマトグラム上の妨害が問題になる穀類の玄米、野菜のキャベツ、果物のオレンジ、アリアル野菜のたまねぎ及び脂肪の多い大豆を用いた。

4. 検査方法

1) 試料の調製

試料 1kg をミキサーで粉碎し、検査用試料とした。
たまねぎとキャベツは GC-FPD, NPD で測定する際の妨害ピークを除去するために試料の 2%となるようにリン酸を加えながら粉碎した¹⁾。

2) 抽出

(1) 穀類・豆類

農産物をミキサーで粉碎し調製した試料 10g を 300mL 遠沈管に採り、アセトニトリル 70mL を加え、一夜放置後 10 分間振とうし、200mL 分液ロートに 5A ろ紙でろ過し、残渣をアセトニトリル 10mL で 3 回洗い込む。これにアセトニトリル飽和ヘキサン 40mL を加え、5 分間振とうし、アセトニトリル層を 200mL ナシ型フラスコに取り、濃縮・乾固後、6%エーテル/ヘキサンで溶解し、10mL に定容して抽出液とした。

(2) 青果物

農産物を細切後、ミキサーで粉碎し調製した試料 10g を 300mL 遠沈管に採り、酢酸エチル 50mL と無水硫酸ナトリウム 50g を加え、ホモジナイズした。上澄み液を 5A ろ紙でろ過し、残渣に酢酸エチル 50mL を加え同様の操作をし、残渣を酢酸エチル 10mL で 2 回洗浄し、濃縮・乾固後、6%エーテル/ヘキサンで溶解し、10mL に定容して抽出液とした。

3) 精製

抽出液は GC-FPD 検査用に 1mL を、HPLC 検査用に 5mL を分取した。

2mL を GC-ECD, NPD 検査用に濃縮・乾固し、25%トルエン/アセトニトリル 2mL に溶解し、あらかじめ 25%トルエン/アセトニトリル 20mL で調整した Envi-Carb/NH₂ カートリッジカラムに負荷し、25%トルエン/アセトニトリル 20mL で溶出した。溶出液を濃縮・乾固し、1%アセトン/ヘキサン 1mL に溶解し、その 0.9mL を GC-NPD 用検液とした。

GC-NPD には検液 3.0 μL をスプリットレス注入した。
Fig.1 に分析のフローシートを示す。

III 結果と考察

1. Envi-Carb/NH₂ カートリッジカラムによる精製

有機窒素系農薬 68 種類を Envi-Carb/NH₂ カートリッジカラムに負荷し、25%トルエン-アセトニトリルで溶出させたところ、ピリミジフェン以外の 67 農薬は全て 20mL までに溶出したので溶出液量は 20mL とした。

Table 1 Recovery of Pesticides Spiked into Agricultural Products									
St. No.	Pesticides	Spiked ($\mu\text{g/g}$)	Recovery(%, mean, n=3)						RSD(%)
			Brown rice	Soybean	Cabbage	Onion	Orange	mean	
	1 Oxamyl	0.5	16	11	34	46	32	28	46
	2 Isoprocab	0.5	89	90	85	85	86	87	2
	3 Fenobucarb	0.5	88	91	88	88	78	87	5
	4 Chlorpropham	1	77	87	80	84	79	81	4
	5 Triflumizol metabolite	1	88	88	89	81	78	85	5
	6 Pyrimethanil	0.5	93	92	80	66	78	82	12
	7 Pirimicarb	0.25	85	90	71	60	90	79	15
	8 Simetryn	0.5	95	87	88	72	94	87	10
	9 Esprocarb	1	88	89	88	92	92	90	2
A	10 Carbaryl	1	94	81	102	111	123	102	14
	11 Cyprodinil	0.5	92	87	83	70	99	86	11
	12 Cyanazine	0.5	81	78	77	76	92	81	7
	13 Triflumizole	1	98	86	34	57	60	67	34
	14 Pretilachlor	1	92	91	84	93	89	90	4
	15 Uniconazole P	1	87	68	88	113	(377)	89*	12*
	16 Miclobutanil	1	94	93	85	92	86	90	4
	17 Pyriminobacmethyl(Z)	1	96	101	87	91	106	96	7
	18 Pyriminobacmethyl(E)	1	99	98	82	96	90	93	7
	19 Thienylchlor	1	94	97	76	95	60	85	17
	20 Etoxazol	1	92	53	71	76	79	74	17
	21 Mefenacet	1	103	102	91	93	115	101	8
	22 Pyridaben	1	93	77	83	89	97	88	8
	23 Trifluralin	1	80	88	81	74	69	78	8
	24 Bendiocarb	1	77	87	98	88	95	89	8
	25 Cyromazine	1	0	73	0	0	97	34	124
	26 Dimethenamid	1	86	100	(668)	82	86	71*	8*
	27 Alachlor	1	88	81	100	94	82	89	8
	28 Thiobencarb	1	80	88	85	86	82	84	3
	29 Tetraconazole	1	80	82	83	83	96	85	7
	30 Pendimethalin	1	77	82	81	84	78	80	3
	31 Penconazole	1	72	76	86	83	80	79	6
	32 Chinomethionat	1	0	0	0	0	0	0	
B	33 Paclobutrazol	1	96	94	110	107	90	99	8
	34 Hexaconazole	1	83	87	84	87	79	84	4
	35 Kresoxim-methyl	1	85	92	84	89	77	85	6
	36 Flusilazole	1	84	88	83	82	83	84	3
	37 Cyproconazole	1	87	98	100	88	95	94	6
	38 Chlorfenapyr	1	84	96	89	90	83	88	5
	39 Tricyclazole	1	33	44	53	38	95	53	42
	40 Diflufenican	1	85	89	85	90	97	89	5
	41 Tebuconazole	1	86	90	94	87	81	88	5
	42 Pyributicarb	1	81	79	81	81	80	80	1
	43 Fenarimol	1	80	82	82	82	85	82	2
	44 Acetamiprid	1	37	62	89	15	93	59	51
	45 Clofentezine	1	0	8	9	35	10	12	95
	46 Pyrimidifen	1	22	77	54	23	45	44	47
	47 Iprodione metabolite	2	87	46	81	91	82	77	21
	48 Pencycuron	2	111	64	61	84	78	80	23
	49 Methabnzhiazuron	2	77	105	107	96	121	101	14
	50 Terbacil	2	75	92	67	86	92	82	12
	51 Diethofencarb	2	93	97	77	88	87	88	8
	52 Metolachlor	2	91	94	75	88	61	82	15
	53 Dichlofluanid	1	61	16	19	0	14	22	94
	54 Triadimenol	2	121	121	75	109	126	110	17
C	55 Butachrol	2	91	54	76	91	87	80	18
	56 Chlorfluazuron	2	33	46	46	42	55	44	16
	57 Flutolanil	2	92	140	69	83	35	84	41
	58 Thifluzamide	2	91	97	75	88	87	88	8
	59 Fludioxonil	2	88	83	58	80	83	78	13
	60 Mepronil	2	92	109	124	117	80	104	16
	61 Propiconazole	2	96	83	78	85	93	87	8
	62 Pyraflufen-ethyl	2	95	99	77	92	92	91	8
	63 Lenacil	2	77	99	69	75	114	87	20
	64 Iprodione	2	111	108	81	94	122	103	14
	65 Cyhalofopbuthyl	2	93	101	77	87	96	91	9
	66 Bitertanol	2	101	108	79	87	85	92	12
	67 Cafenstrole	2	246	237	82	126	111	160	42
	68 Difenoconazole	2	95	104	71	79	104	91	15
*: Recoveries and RSD from four agricultural products									

トリシクラゾール、アセタミプリド、クロフェンテジン、ピリミジフェンは特に妨害ピークの影響を受けたわけではないが、いずれも農産物間の RSD が 40%以上であった。トリシクラゾールはオレンジで 95%と回収率が高く、その他の農産物 33 ~ 53%と低回収率であったため農産物間の RSD が大きくなったものであり、ピリミジフェンはカートリッジカラムからの溶出が十分ではないため回収率が低く、RSD が大きくなったものである。ちなみにカートリッジカラムからの溶出液量を 30mL にしたときのピリミジフェンの各農産物からの回収率は 79%、農産物間の RSD は 21%であった。本法では両者とも平均回収率が 70%以下であるので検査不可と判断された。アセタミプリド、クロフェンテジンは特に RSD が大きいことと、回収率 20%以下の低いものがあるため検査不可と判断された。他の 17 農薬については検査可能と判断した。

標準液 C ではジクロフルアニド、フルトラニル、カフェンストロールの農産物間 RSD が大きかった。ジクロフルアニドは SH 基の影響を受け分解するため²⁾、たまねぎでは回収率が 0%となったと推測される。これは平均回収率が 22%と低いので検査不可と判断された。フルトラニルは大豆では妨害ピークが上乗せし回収率が高くなり、オレンジでは妨害ピークの肩に掛かったために回収率が低くなった。大豆、オレンジでは検査不能と判断した。カフェンストロールは 86 ~ 246%と回収率が高くなった。これは分離カラムやインサートへの農薬の吸着がおきており、GC 試料液に比べて標準液の方が強く吸着されているものと推測され³⁾、平均回収率が 160%であるため検査不能と判断された。他の 19 農薬については検査可能と判断された。

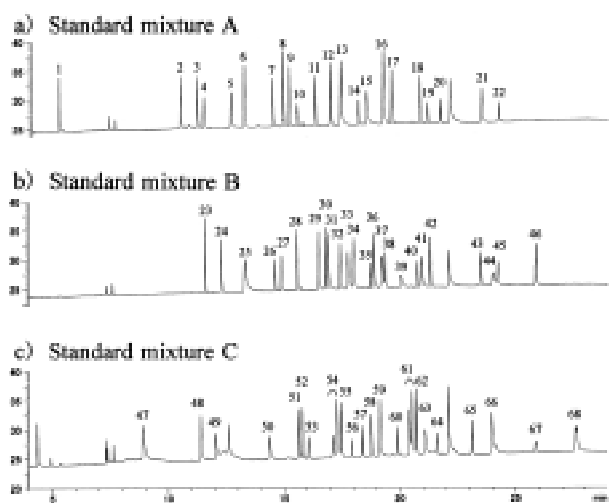


Fig.2 Gas chromatograms of pesticide standard mixture A, B, C (0.05 ~ 0.4mg/L)

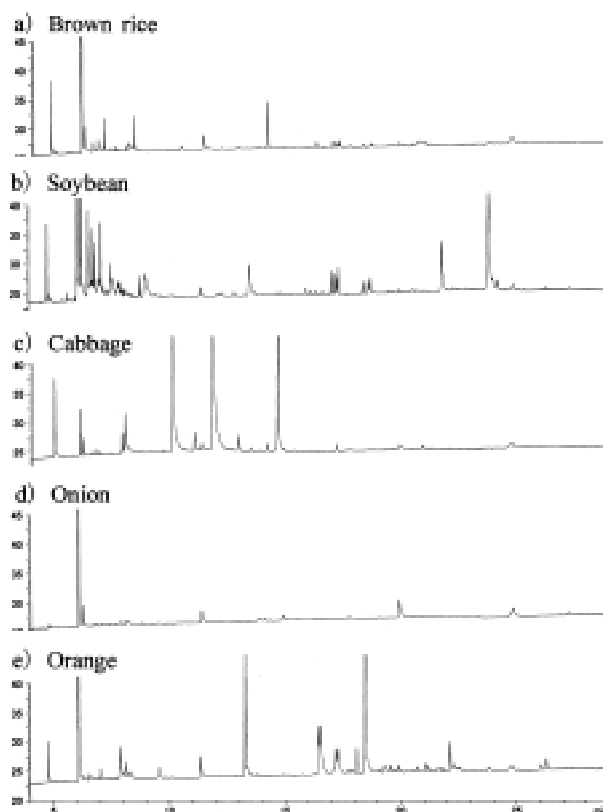


Fig.3 Gas chromatograms of agricultural products extracts

a) : brown rice, b) : soybean, c) : cabbage, d) : onion, e) : orange

IV ま と め

今回、GC-NPD による多成分分析法を検討した有機窒素系の 68 農薬のうち 56 農薬は添加した 5 種類の農産物全てで検査可能であった。ユニコナゾール P、ジメテナミド、フルトラニルは一部の農産物では妨害ピークの影響を受けて検査不能であった。またオキサミル、シロマジン、キノメチオネート、トリシクラゾール、アセタミプリド、クロフェンデン、ジクロフルアニドは回収率が低く、RSD が大きいため、ピリミジフェンは Envi-Carb/NH₂ カートリッジカラムからの溶出が不十分ため、カフェンストロールはインサート又は分離カラムへの吸着により、見かけの回収率が高くなるためこれら 9 農薬は本法では検査不能と判断された。

しかし、Envi-Carb/NH₂ カートリッジカラムで精製することで、従来行っていた 5%含水フロリジルカラムによって 4 分画する精製に要する時間を短縮したこと及び GC 測定時間を 1/4 に短縮させたことにより検査に要する時間を約 1/3 に短縮することができた。

我が国では食の安全志向が高まる中、農産物に残留する農薬の残留基準が大幅に見直され、平成 17 年度まで

に新たに 200 の農薬に残留基準が設定される予定である。基準の充実に伴い検査に要する労力は益々増大すると予想される。

こういう状況に対し、当所ではできるだけ簡便、迅速に多成分を検査できる方法を開発し、検査時間及び検査の労力の省力化を図ることで対応していきたいと考えている。

文 献

- 1) 長南隆夫：食衛誌，33，543 ～ 547，(1992)
- 2) 農薬残留分析法研究班 編：最新農薬の残留分析法，中央法規出版，東京，(1995)
- 3) 小川貴史，岡本尚子，谷口勝彦，山下健司，西田政司，樋口初良：食衛誌，38，204 ～ 210，(1997)