

果物中の 1 - ナフチル酢酸ナトリウムの分析法と残留実態調査

西田政司¹

Analysis and Survey of Residual α -sodium naphthyl acetate in Fruits

Seiji NISHIDA

Sammary

A method for the analysis of 1-naphthyl acetylacetic acid(NAA) in fruits by HPLC was developed . NAA was extracted under acidic conditions, and determined by HPLC with a fluorescence detector . The chromatography was performed on a SPHEROSORB ODS-2(4.6mmI.D. $\times$ 250mm, 10 μ m) with a mobile phase of MeOH-0.01M KH₂PO₄(1:1), pH3.5, at a flow rate of 1.0ml/min, and wavelengths of 280nm (Ex) and 330nm(Em) . The recoveries of NAA at the level of 0.05ppm from satsuma mandarin was 86.1% . The detection limit of NA-Na was 0.05ppm . NA-Na was not detected in 26 samples of domestic fruits(cherry , 1 ; fig , 2 ; grape , 4 ; loquat , 1 ; peach , 2 ; pear , 7 ; persimmon , 2 ; plum , 1 ; satsuma mandarin , 5 ; watermelon , 1) .

Key Words : 1-ナフチル酢酸 1-naphthyl acetic acid , 高速液体クロマトグラフ HPLC , 果物 Fruits

は じ め に

方 法

平成 14 年 4 月に山形県産西洋なしで未登録農薬カブタホール及びシヘキサチン不正使用が発見された .

その後、未登録農薬の α - ナフチル酢酸ナトリウム (NA-Na)及びペンタクロロニトロベンゼン(PCNB)も同様に不正使用されていたことが判明した .

NA-Na は昭和 39 年 1 月 16 日に登録され、昭和 51 年 9 月 30 日に登録が失効した植物成長調整剤で、有効成分は 1-ナフチル酢酸(NAA)である¹⁾ .

登録当時の商品名はナフサクやヒオモンとして販売され、りんごやみかんの落下防止、かぼちゃの結果促進並びに茶、桑及びバラ等の挿し木の活着促進剤として使われていた²⁾ .

当研究所ではカブタホール及びシヘキサチンについては検査標準作業書を作成しており、PCNB は検査マニュアルを作成していたが、NA-Na については検査の実績がなかったので、急速検査法を確立すると共に、市内流通果物と流通前の果物の計 10 品目、26 検体について残留実態を調査したので結果を報告する .

1. 試薬

NAA 標準試薬 ; 和光純薬工業 (株) 残留農薬試験用炭酸水素ナトリウム ; 和光純薬工業 (株) 特級

メタノール、ジエチルエーテル無水硫酸ナトリウム ; 和光純薬工業 (株) 残留農薬用

NAA1000mg/L 標準原液 ; NA-Na20mg を精秤し、メタノールで 20ml に定容した .

NAA 標準液 ; NAA1000mg/L 標準原液を HPLC 移動相で適宜希釈して使用した .

2. 機器及び運転条件

1) 機器

ポンプ ; WATERS 510 , 検出器 ; SHIMADZU RF-530 , オートインジェクター ; JASCO AS-950 , インテグレーター ; JASCO 801-IT , 恒温槽 ; スガイケミー U 620

2) 運転条件

カラム ; SPHEROSORB ODS-2(4.6mmI.D. $\times$ 250mm, 10 μ m) , 波長 ; Ex(280nm) , Em(330nm) , カラム温度 ; 25 , 流量 ; 1mL/min , 注入量 ; 10 μ L , 移動相 ; メタノール-0.01M KH₂PO₄(1:1) , pH3.5

¹ 福岡市保健環境研究所 衛生化学部門
(現所属 : 福岡市下水道局水質管理課)

3. 残留実態調査試料

平成 14 年 6 ～ 9 月に福岡市内を流通した果物 8 品目 ,14 検体, 流通前の果物 5 品目, 12 検体, 計 10 品目, 26 検体の国産果物(Table1)を残留実態調査の試験に供した。

4. 検査方法

試料100gにリン酸2mLを加えながら粉碎し, 均一化した。その10gを分取し, エーテル25mLを加えホモジナイズし, 遠心分離後, エーテル層を分取した。残渣にエーテル25mLを加え, 同様の操作を繰り返し, エーテル層を合わせた。これに1%炭酸水素ナトリウム20mLを加え5分間振とうし, 水層を分取した。水層に10%硫酸2mLとエーテル30mLを加え, 5分間振とう後, エーテル層を分取した。これを無水硫酸ナトリウムのカラムを通して脱水し, そのカラムをエーテル 10mL で 2 回洗浄し, 洗浄液を先のエーテル層に合わせた。これを濃縮・乾固後, HPLC の移動相 1mL に溶解し, 0.45 μ m メンブランフィルターでろ過し, ろ液を HPLC 用試験溶液とし, 10 μ L を HPLC に負荷し, 測定した。

Fig.1 に測定のフローシートを示す。

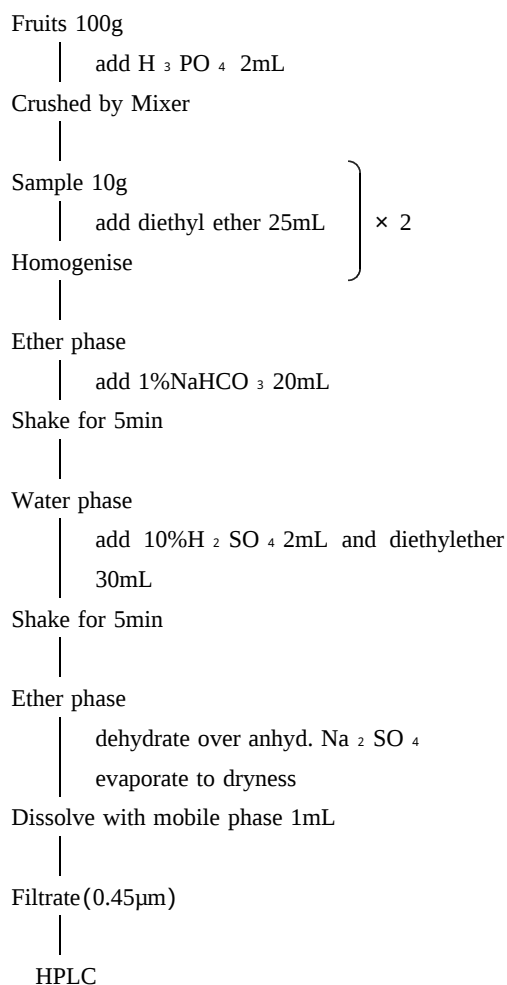


Fig.1 Analytical procedure for NA-Na

結果と考察

1. 抽出方法

NAA は酢酸基を有するので, リン酸酸性下でエーテル 25mL で抽出した。この操作を行ったときの回収率は 1 回抽出で 95%, 2 回, 3 回抽出ではともに 97%であったので抽出は 2 回とした。

2. 液/液分配による精製

みかん 10g に NAA0.5 μ g 添加し, 上記の操作で NAA を抽出したエーテル層に 1%炭酸水素ナトリウム 20mL を加え, 液/液分配して水層に移した。この水層に 5%硫酸 2mL を加え酸性にした後, エーテル 30mL を加え液/液分配して再びエーテル層に移した。この操作を行ったときの回収率(n=5)は 86.8%, RSD は 3.1%と良好に回収された。

3. 検出方法

NAA は 280nm に UV 吸収があるので, みかんを上記の方法で抽出・精製して得た試験溶液を 280nm で測定したが, マトリックスの影響を受けて測定できなかった。

そこで, ナフタリン環があるので, 励起波長 280nm, 蛍光波長 330nm で測定したところ³⁾, ほとんどマトリックスの影響は受けなかったため, 上記の条件で蛍光強度を測定することにした。

4. 分離の検討

1) 分離カラム

移動相をメタノール-水 (1:1) とし, 分離カラムに Inertsil Ph-3(4.6mm × 250mm, 5 μ m), RP-8 GP(4.6mm × 250mm, 5 μ m), SPHEROSORB ODS-2(4.6mmI.D. × 250mm, 10 μ m) を使用して分離状況をみたところ, 何れも R.T. は 4 分以内であったが, 最も R.T. が遅い SPHEROSORB ODS-2(4.6mmI.D. × 250mm, 10 μ m) を使用した。

2) 移動相の pH

移動相をメタノール-0.01M KH₂PO₄ (1:1) とし, pH を 6.5, 5.5, 4.5, 3.5 としたときのマトリックスの影響を調査した。

pH が低くなるほど R.T. は遅くなり, pH6.5 ~ 4.5 ではいくつかの果物でマトリックスの影響を受けたが, pH3.5 では R.T. が 16.3min となって今回検討した全ての果物で分析が可能であったので, pH は 3.5 に調整することにした。Fig.2 に移動相の pH を 3.5 に調整したときの NAA0.5mg/L 標準溶液と各種果物のクロマトグラムを示す。

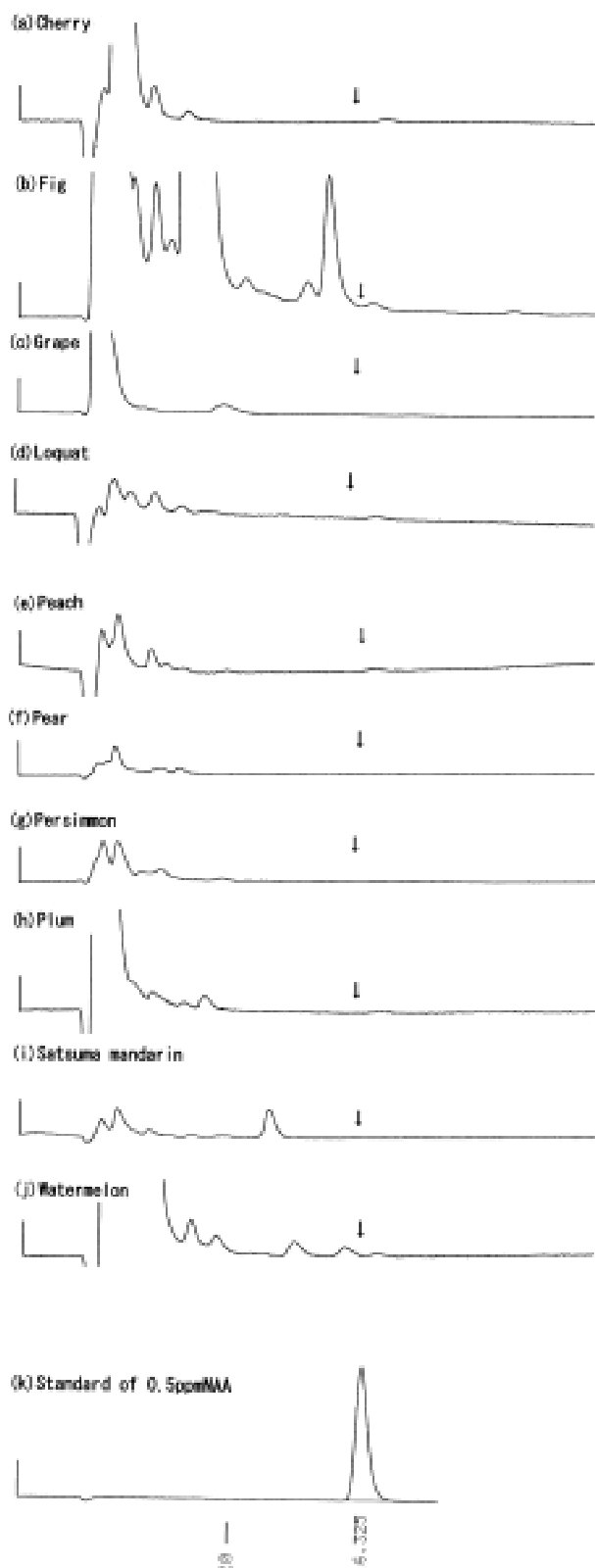


Fig.2 HPLC Chromatograms of (a)Cherry ,(b)Fig ,(c) Grape ,(d)Loquat ,(e)Peach ,(f)Pear, (g)Persimmon , (h)Plum ,(i)Satsuma mandarin ,(j)Watermelon extract and (k)standard of NAA 0.5mg/L.

5. 検量線の直線性と検出下限値

本法では NAA0.025 ~ 2.0ppm(NA-Na として)の範囲で濃度とピーク面積の間には Fig.3 に示すように良好な相関関係が得られた . また , S/N 比が 10 となる 0.05ppm を検出下限値とした .

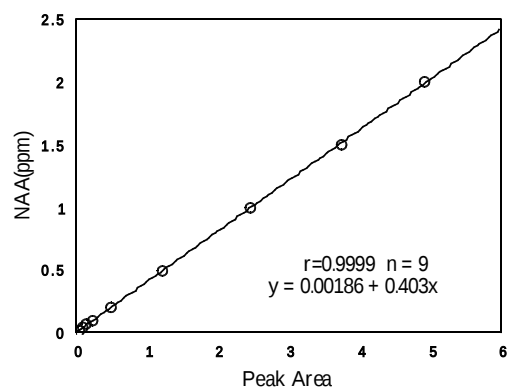


Fig.2 Calibration curves for NAA

6. 果物における残留実態調査

26 検体の国産果物の NAA の残留実態調査を行ったが , 今回調査した果物からは NAA は検出されなかった . 調査した果物と検体数及び検査結果を Table1 に示す .

Table1 Analytical result of NAA in marketing and before marketing fruits

Fruits	Class*	Y . M . D .	Product spot	NAA
Cherry	M	02.06.18	Yamagata	(-)
Fig	B	02.09.04	Fukuoka	(-)
	B	02.09.04	Fukuoka	(-)
Grape	M	02.07.16	Fukuoka	(-)
	M	02.07.16	Saga	(-)
	M	02.07.16	Ohita	(-)
	B	02.09.04	Fukuoka	(-)
Loquat	M	02.06.04	Fukuoka	(-)
Peach	M	02.06.04	Fukuoka	(-)
	M	02.08.20	Yamagata	(-)
Pear	M	02.08.19	Fukuoka	(-)
	M	02.08.20	Fukuoka	(-)
	M	02.08.20	Fukuoka	(-)
	M	02.08.20	Kumamoto	(-)
	B	02.09.04	Fukuoka	(-)
	B	02.09.04	Fukuoka	(-)
	B	02.09.04	Fukuoka	(-)
Persimmon	B	02.09.04	Fukuoka	(-)
	B	02.09.04	Fukuoka	(-)
Plum	M	02.06.18	Fukuoka	(-)
Satsuma mandarin	B	02.09.04	Fukuoka	(-)
	B	02.09.04	Fukuoka	(-)
	B	02.09.04	Fukuoka	(-)
	B	02.09.04	Fukuoka	(-)
	M	02.09.23	kumamoto	(-)
Watermelon	M	02.07.30	Ohita	(-)

*M:marketing fruits , B :before marketing fruits , (-) : <0.05ppm

お わ り に

平成 5 年以降，農薬の残留基準が次々に改正され，現在 229 農薬に基準が設けられている．この 10 年間は毎年 20 項目程度の農薬に新しく基準が設定されている．

これら新しく基準が設定された農薬の検査法の検討に忙殺され，NAA のように 20 年以上前に登録が抹消され，残留基準値も設定されていない農薬については全く検査法の検討は行っていなかった．

今回，未登録の農薬が輸入され，違法に使用されたことが判明したため，急遽 NA-Na の検査法を確立し，市内を流通している果物及び流通する前の果物について，

その残留実態調査を行ったが，輸入食品が増加すれば，NAA のような予測できない農薬が残留しているという事例が今後発生することがと危惧される．

文 献

- 1) 植村振作，河村宏，辻万千子，富田重行，前田静夫：農薬毒性の辞典，三省堂，1998
- 2) 福永一夫，編；農薬ハンドブック 1970 年版，日本植物防疫協会，1969
- 3) José Luis Vilcjehez，Rosario Blanc，Alberto Navalón；Talanta，45，105 ~ 111，(1997)