

既存公定試験法を応用した玄米中シメトリンの分析

高野 伊知郎*, 永山 敏廣*, 小林 麻紀*, 田村 康宏*, 立石 恭也*
木村 奈穂子*, 北山 恭子*, 伊藤 正子*, 斉藤 和夫*

Determination of Simetryn in Rice by Applying the Notified Analytical Method Shown in Japanese Food Sanitation Law

Ichiro TAKANO*, Toshihiro NAGAYAMA*, Maki KOBAYASHI*, Yasuhiro TAMURA*, Yukinari TATEISHI*
Naoko KIMURA*, Kyoko KITAYAMA*, Masako ITO* and Kazuo SAITO*

Simetryn in rice was determined by applying the analytical method shown in the Japanese Food Sanitation Law for eleven pesticides including cafenstrole, difenoconazole, cyproconazole etc. The sample of rice was homogenized with acetone followed by extraction with *n*-hexane, and the extract was evaporated. Fat or oil was removed from the extract by *n*-hexane / acetonitrile partitioning. Then the extract was purified by Florisil column chromatography and analyzed using GC-FTD and GC-MS. The recovery of simetryn spiked in rice at the 0.02 or 0.05 ppm level ranged from 78.1 to 80.2 %, and the quantitation limit from rice was 0.01 ppm.

Keywords: シメトリン simetryn, 農薬 pesticide, 玄米 rice, ガスクロマトグラフ(GC) gas chromatograph (GC), アルカリ熱イオン化検出器(FTD) flame thermionic detector (FTD), 質量分析計(MS) mass spectrometer (MS), 告示試験法 notified analytical method shown in Japanese Food Sanitation Law

緒 言

シメトリン(Fig.1)は1969年に登録された合成トリアジン系除草剤である¹⁾。平成13年3月23日、薬事食品衛生審議会食品衛生分科会毒性部会残留農薬部会合同部会の審議により食品中の残留農薬基準設定に係わる検討方針が示された²⁾。近い将来、玄米に対し残留基準値が設定され、官報に告示される予定である。

残留農薬基準は現在 214農薬に係わる110通りの試験法が示されている³⁾。一方、多種類の農薬を検査するためには種々の試験法を駆使しなければならないため、複数の農薬を一斉に分析する同時分析法が求められている。そこで今回シメトリンの分析法を作成するにあたり、食品衛生法規格基準に記載された既存の公定試験法(以下、告示試験法と略す)を応用した同時分析法の確立を試みた。

実験方法

1. 試料

市販の玄米を用いた。

2. 試薬

シメトリン標準液: シメトリン(和光純薬工業(株)製)をアセトンに溶解し1,000 ppmの標準原液を作製し、*n*-ヘキサンで適宜希釈した。有機溶媒等: 残留農薬試験用を用いた。フロリジル: Florisil PR(和光純薬工業(株)製)を130 で12

時間以上活性化し、デシケーター中で放冷したものを用いた。

3. 装置

キャピラリーガスクロマトグラフ(GC-FTD): (株)島津製作所製 GC-17A(検出器: FTD), ガスクロマトグラフ-質量分析計(GC-MS): Hewlett Packard社製 HP5973, 粉砕器: (有)廣澤鉄工所製ダンシングアジテーター

4. 分析方法

告示試験法の一つである「カフェンストロール等11種農薬試験法³⁾」に従った。試料溶液の調製方法をScheme 1に示した。また、GC-FTD及びGC-MS分析条件をTable 1に示した。

結果及び考察

1. 試験溶液の調整

シメトリンの分析法には、農薬取締法で定められた方法として、アセトンで抽出し、ジクロロメタンに転溶後、フロリジルミニカラムで精製し、GC-FTDで測定する方法がある⁴⁾。この方法は加水分解や誘導体化などの特別な操作を必要とせず、かつ精製法も一般的な方法であるが、環境を汚染する塩素系溶媒を用いる点で問題があった。GC-FTDを用い、これに類似した告示試験法は「カフェンストロール等試験法³⁾(以下告示法)及び「アラクロール等

* 東京都立衛生研究所微生物部細菌第一研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

* The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, 169-0073 Japan

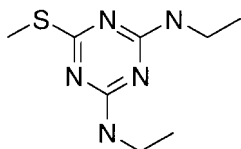


Fig. 1. Chemical Structure of Simetryn

試験法³⁾(以下告示法) 等がある。両告示法ともアセトンで抽出する。告示法 は *n*-ヘキサンに転溶後、フロリジルで精製を行う。使用するフロリジルは 10 g、アセトン/*n*-ヘキサン(1:19)溶液 100 mLで洗浄後、アセトン/*n*-ヘキサン(3:7)溶液 100 mLで溶出する。告示法 は酢酸エチルに転溶後、フロリジルで精製を行う。使用するフロリジルは 5 g、エーテル/*n*-ヘキサン(1:99)溶液 50 mLで洗浄後、アセトン/*n*-ヘキサン(3:7)溶液 50 mLで溶出する。告示法 は告示法 と比較した場合、転溶時に *n*-ヘキサンを用いていること、フロリジルカラム充填剤量が多いこと、さらに洗浄溶媒の極性を強くしていること等から、玄米中シメトリンについての高い精製効果が期待された。そこで、告示法 について一連の操作をシメトリン標準溶液を用いて行い、さらに検討することとした。シメトリン標準溶液を10%塩化ナトリウム溶液に添加し、告示法 に従い操作して、回収率を求めたところ、96.7%と良好な回収が得ら

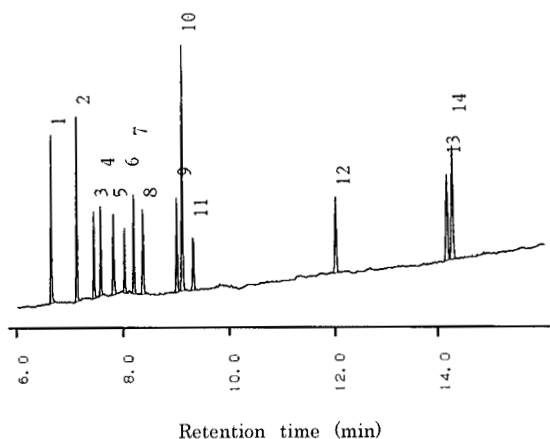
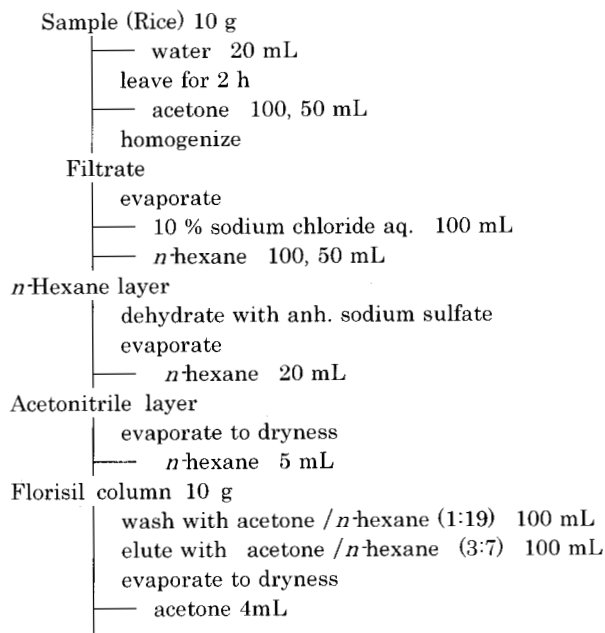


Fig. 2. Gas Chromatogram of 12 Pesticide Standards
1: simetryn, 2: tetraconazole, 3: penconazole,
4: triadimenol, 5: fludioxonil, 6: hexaconazole,
7: thifluzamide, 8: cyproconazole, 9&10: propiconazole,
11: tebuconazole, 12: cafenstrole, 13&14: difenoconazole
Analytical conditions are listed in Table 1.



Test solution for GC-FTD and GC-MS

Scheme 1. Analytical Method for Simetryn

れたことから、シメトリン分析に告示法 が適用できることが確認された。

2. GC分析条件の検討

告示試験法³⁾と同一条件で測定したGCクロマトグラムを Fig.2 に示した。カフェンストールを約12分で流出するように流速を調整したところ、シメトリンは約6.6分で流出した。またカフェンストール等他の11農薬との分離も良好であった。

3. 分析精度

GC-FTDにおけるシメトリンの検出限界は 0.005 ppm、試料繰り返し注入精度はC.V. 4.3%(n=8)であった。また、検量線は 0.01 ~ 1.0 ppmの範囲で良好な一次回帰直線を与えた。以上の結果から、本法は玄米中シメトリン分析に十分な分析精度を有することが確認された。

4. 添加回収試験

シメトリンを玄米に添加し、添加回収試験を行った。Fig.3に示すように試料由来の妨害ピークによる影響なく分析が可能であった。玄米には残留基準値が 0.05 ppmが設定される予定であるため、試料中濃度が 0.02及び 0.05 ppmとなるようにシメトリン標準溶液を添加した。3回試行による回収率の平均値はいずれの場合も約 80%であり、本

Table 1. GC-FTD and GC-MS Conditions for Simetryn Analysis

| | |
|--------|--|
| GC-FTD | Column : DB-1 0.25 mm i.d.×30 m (0.25µm), Col.temp. : 100 (1 min)- 30 /min - 250 (0 min)- 6 /min - 300 (2 min), Press: 151 psi, Total flow : He 40 mL/min, Col. flow : 1.8 mL/min, Velocity : 40 mL/cm ² , Inj. temp. : 250 , splitless, Inj vol. : 1 µL, Det. temp.: 300 |
| GC-MS | Column : DB-5MS 0.25 mm i.d. ×30 m (0.25µm), Col.temp. : 50 (1 min)- 25 /min - 125 (0 min)- 10 /min - 300 (6.5 min), Press: 7.7 psi, Total flow : N ₂ 33 mL/min, Col. flow : 1.0 mL/min, Velocity : 36 mL/cm ² , Inj. temp.: 250 , splitless, Inj vol. : 1 µL, MS Quad : 150 , MS Source : 230 , EI 70 eV, Scan mode : range (<i>m/z</i>) : 50 to 550, SIM mode : monitoring mass (<i>m/z</i>) : 213, 198, 170, 155, 138 |

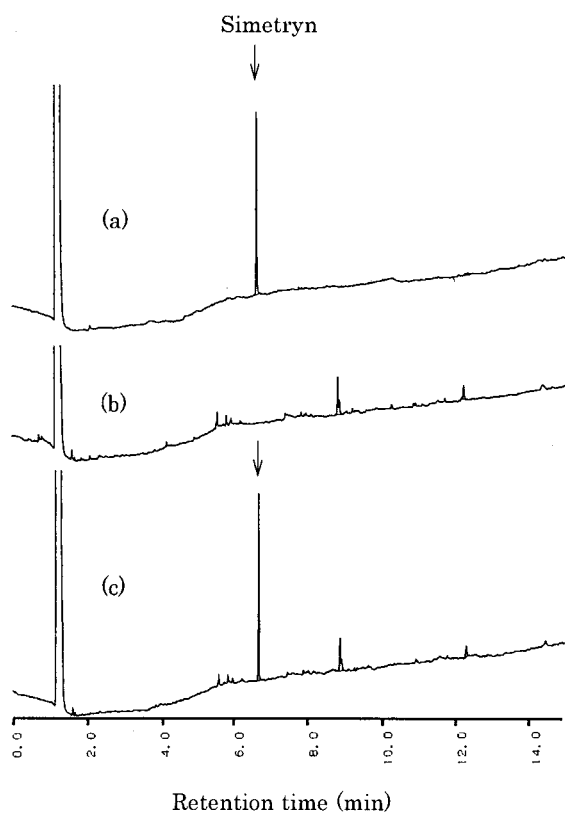


Fig. 3. Gas Chromatogram of Rice Extract
(a): simetryn standard, (b): unspiked sample,
(c): spiked sample (Simetryn 0.05 ppm)
Analytical conditions are listed in Table 1.

Table 2. Recovery of Simetryn Spiked in Rice

| Spiked level (ppm) | Recovery ¹⁾ (%) |
|--------------------|----------------------------|
| 0.05 | 78.1 ± 2.0 |
| 0.02 | 80.2 ± 4.8 |

1) The values are mean ± S. D. (n=3).

法がシメトリン分析に十分適用できることがわかった (Table 2).

5. GC-MSによる確認

シメトリンの確認はGC-MS SCAN法によった。添加回収試験で作製した玄米中のシメトリンのマスキングクロマトグラム及びマススペクトルをFig.4に示した。シメトリンでは分子イオンピークが比較的大きく観測された。このことから、0.02 ppm程度の試料中濃度であれば、GC-MS SCAN法でシメトリンを確認することが十分可能であった。さらに、SCAN法に比べて高感度かつ夾雑物の影響が少ないSIM法⁵⁾を用いた測定を試みた。シメトリンのフラグメントイオンのうち、強度の大きい m/z Intensity (%) 138 (20), 155 (30), 170 (34), 198 (23)及びシメトリンの分子イオンピーク213 (100)をモニターイオンとして測定を行ったところ、より低濃度のシメトリンも検出できることが明らかとなり、確認作業時の濃縮操作を省略することができた。以上の結果を合わせ、本分析法のシメトリン定量限界を0.01

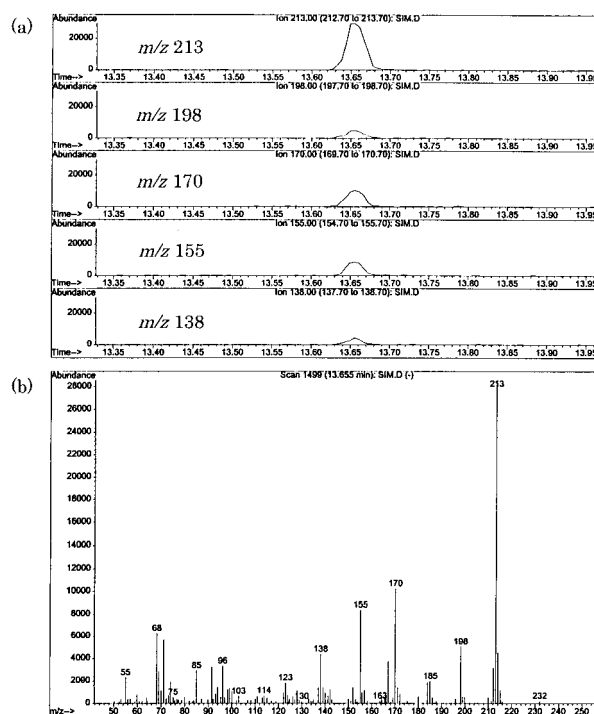


Fig. 4. Mass Chromatogram (a) and Mass Spectrum (b) of Simetryn Added in Rice (0.05 ppm)
Analytical conditions are listed in Table 1.

ppmと設定した。

まとめ

既存公定試験法を応用した玄米中シメトリンの分析法について検討した。公定試験法のうちカフェンストール等11種農薬告示試験法の適用を試みたところ、シメトリンの定量限界は0.01 ppm、玄米を用いた添加回収試験で回収率は約80%と良好で、クロマトグラム上に分析を妨害するようなピークも認められなかった。よって本試験法を適用することでシメトリンを含めた12種の農薬を同時に分析することができ、分析の省力化を図ることができた。

本研究の一部は国立医薬品食品衛生研究所の委託により実施した。

文献

- 1) 農薬ハンドブック1998年版編集委員会：農薬ハンドブック1998年度版，430-433，1998，社団法人日本植物防疫協会，東京。
- 2) <http://www.mhlw.go.jp/shingi/0103/txt/s0323-3.txt>
- 3) 厚生労働省告示：第56号，平成13年2月26日。
- 4) 「今月の農薬」編集室：改訂3版 農薬登録保留基準ハンドブック作物水質残留基準と試験法，407-409，1998，化学工業日報社，東京。
- 5) 川崎勝，福原克治，内山貞夫：食衛誌，35，479-496，1994。