

デュアルカラム GC-ECD による食品中の有機塩素系農薬及び ピレスロイド系農薬の一斉分析

立石 恭也*, 高野 伊知郎*, 小林 麻紀*, 田村 康宏*, 富澤 早苗*,
木村 奈穂子*, 北山 恭子*, 永山 敏廣**, 鎌田 国広*

Multiresidue Analysis of Organochlorine and Pyrethroid Pesticides in Foods Using Dual-column GC-ECD

Yukinari TATEISHI*, Ichiro TAKANO*, Maki KOBAYASHI*, Yasuhiro TAMURA*, Sanae TOMIZAWA*,
Naoko KIMURA*, Kyoko KITAYAMA*, Toshihiro NAGAYAMA** and Kunihiko KAMATA*

A multiresidue analytical method was developed for the determination of 32 kinds of organochlorine, 11 kinds of pyrethroid and 3 kinds of other pesticide residues in foods by using dual-column GC-ECD.

Pesticides were extracted with acetone: *n*-hexane (2:3), and crude extract was distributed to ethylacetate: *n*-hexane (1:4). Pesticide eluate was passed through a Florisil mini-column for cleanup and separated to 2 fractions. The first fraction was eluted with 15 mL of diethylether: *n*-hexane (3:2), and the second fraction was eluted with 10 mL of acetone: *n*-hexane (1:9). Each eluate was subjected to dual-column GC with dual ECD detectors, respectively.

Recoveries of 46 pesticides from strawberry, tomato and pumpkin determined by GC-ECD were 70 ~ 120 %. This method was useful for multiresidue analysis of pesticides in foods.

Keywords : 残留農薬 pesticide residue, 一斉分析 multiresidue analysis, 有機塩素系農薬 organochlorine pesticide, ピレスロイド系農薬 pyrethroid pesticide, デュアルカラム dual-column, 固相抽出 solid phase extraction, 電子捕獲検出器付ガスクロマトグラフ GC-ECD, 青果物 vegetables and fruits

緒 言

食品衛生法において、残留基準値が設定されている農薬は、現在 229 種類あり、121 通りの残留農薬試験法が示されている。また、平成 18 年 5 月末までにポジティブリスト制が導入されることにより測定対象農薬のさらなる増加が必須となっている。

このような状況の中で、食品中の農薬残留実態を把握するために、多くの農薬を簡便、迅速な処理で一斉に分析する必要性が高まっている。特に、平成 9 年に残留農薬迅速分析法の利用について通知が出されて以降、一斉分析法が多数報告されている¹⁻⁸⁾。その中でデュアルカラムを用いた農薬の分析法についても、既にいくつか報告されているが、これらの多くは 1 つの注入口から 2 本の同じ性質のカラムに分岐させ、異なる検出器により測定を行うものである。⁶⁻⁸⁾

今回われわれは、検出器に ECD を用いたデュアルカラムガスクロマトグラフ (以下 GC-ECD と略す) による食品中の有機塩素系農薬及びピレスロイド系農薬の一斉分析法について検討した。多数の検体を扱う日常業務の効率化を考慮し、1 台の GC に 2 組のデュアルカラム A 基の ECD

を搭載した GC システムを構築し、ミニカラムによる精製法と組み合わせて、簡便、迅速な分析法を開発したので報告する。

実験方法

1. 試料

添加回収試験には市販のイチゴ、トマト、カボチャの 3 種類の青果物を試料として用いた。これらの試料は本法により測定対象農薬が検出されないことを確認した。

2. 測定対象農薬

測定対象農薬は、BHC、DDT など有機塩素系農薬 32 種、フェンプロパトリンなどピレスロイド系農薬 11 種、プロモピロピレートなどその他の農薬 3 種の合計 46 種を選定した (Table 1)。

3. 試薬及び標準品

農薬標準品: 林純薬 (株) 製及び和光純薬工業 (株) 製の残留農薬試験用標準品を用いた。これらの農薬は、それぞれ 10 mg をアセトンまたは *n*-ヘキサンに溶解し全量を 50 mL として標準原液とした。標準原液は、それぞれ必要に応じて *n*-ヘキサンで希釈し、混合溶液として用いた。

* 東京都健康安全研究センター - 食品化学部残留物質研究科 169-0073 新宿区百人町 3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, 169-0073 Japan

** 東京都健康安全研究センター環境保健部

Table 1. Recovery of Spiked Pesticides from Vegetables and Fruits

No.	Pesticide	Category	Group	Spiking level (ppm)	Recovery (% , n=2)		
					Strawberry	Tomato	Pumpkin
1	-BHC	Cl	A	0.002	56.4	78.3	85.9
2	-BHC	Cl	A	0.002	75.7	78.0	71.2
3	-BHC	Cl	A	0.002	49.6	73.3	50.0
4	-BHC	Cl	A	0.002	84.6	88.5	102.9
5	<i>p,p</i> -DDD	Cl	A	0.004	82.7	83.6	85.5
6	<i>p,p</i> -DDE	Cl	A	0.004	86.8	82.0	89.4
7	<i>p,p</i> -DDT	Cl	A	0.004	86.0	82.0	80.9
8	<i>o,p</i> -DDT	Cl	A	0.004	81.3	86.2	70.7
9	Aldrin	Cl	A	0.004	37.3	41.7	87.1
10	Endrin	Cl	A	0.004	92.3	94.6	103.2
11	Dieldrin	Cl	A	0.004	78.2	78.6	124.4
12	Heptachlor	Cl	A	0.004	59.2	39.3	48.9
13	Heptachlor epoxide	Cl	A	0.004	78.4	78.1	89.6
14	Vinclozolin	Cl	A	0.004	84.4	87.7	66.4
15	Endosulfan	Cl	A	0.004	76.9	77.2	74.5
16	Dicofol	Cl	A	0.02	96.9	95.6	100.5
17	Quintozone (PCNB)	Cl	A	0.002	46.7	63.0	73.1
18	Chloronitrofen (CNP)	Cl	A	0.004	68.3	74.6	73.5
19	Tetradifon	Cl	A	0.004	91.2	88.5	110.7
20	Chloropropylate	Cl	A	0.01	78.5	68.0	77.1
21	Methoxychlor	Cl	A	0.01	83.5	80.0	79.3
22	Halfenprox	Ot	A	0.02	71.6	63.6	55.6
23	Chlorothalonil (TPN)	Cl	B	0.01	71.4	98.9	nd
24	Dichloran (CNA)	Cl	B	0.01	93.7	107.7	103.5
25	Procymidone	Cl	B	0.01	90.5	80.3	71.3
26	Captan	Cl	B	0.01	64.1	46.9	8.5
27	Endosulfan	Cl	B	0.01	115.4	88.1	104.1
28	Endosulfan sulfate	Cl	B	0.01	124.4	132.3	111.5
29	Chlorobenzilate	Cl	B	0.01	86.4	81.2	88.2
30	Chlorfenapyr	Ot	B	0.005	156.9	136.3	109.3
31	Dichlofluanid	Cl	B	0.01	77.1	69.8	11.9
32	Iprodione	Cl	B	0.05	115.1	64.8	54.9
33	Captafol	Cl	B	0.05	89.7	43.0	68.1
34	Chlomethoxynil	Cl	B	0.01	117.9	128.7	107.1
35	Fenpropathrin	Py	A	0.02	92.7	92.0	101.8
36	Bromopropylate	Ot	A	0.02	94.4	88.4	94.6
37	Acrinathrin	Py	A	0.1	108.9	84.3	91.4
38	Bifenthrin	Py	A	0.02	87.8	89.3	91.8
39	Cyfluthrin	Py	A	0.02	100.4	99.0	110.0
40	Cyhalothrin	Py	A	0.02	88.6	92.1	100.6
41	Cypermethrin	Py	A	0.02	99.4	98.9	111.6
42	Flucythrinate	Py	B	0.02	109.9	139.9	107.3
43	Permethrin	Py	A	0.02	96.8	98.8	116.6
44	Fenvalerate	Py	A	0.02	90.8	109.0	128.9
45	Fluvalinate	Py	A	0.02	95.8	99.2	99.0
46	Deltamethrin	Py	A	0.02	100.0	68.7	97.8

nd = not detected

Cl = Organochlorine pesticides

Py = Pyrethroid pesticides

Ot = Other pesticides

有機溶媒：アセトン，*n*-ヘキサン，酢酸エチル及びジエチルエーテルは関東化学（株）製または和光純薬工業（株）製の残留農薬試験用を用いた。

その他の試薬：残留農薬試験用または試薬特級品を用いた。

ミニカラム：Waters 社製の Sep-pak® Plus Florisil® (910 mg) を用いた。

4. 装置及び測定条件

GC-ECD：(株)島津製作所製 GC-17A (ECD 検出器を 4 基搭載したもの); カラム：Agilent 社製不活性化処

理フューズドシリカチューブ (0.32 mm i.d. × 1 m), Supelco 社製 SPB™-608 (0.25 mm i.d. × 30 m, 膜厚 0.25 μm), J&W 社製 DB-5MS (0.25 mm i.d. × 30 m, 膜厚 0.25 μm), 構成: 1つの注入口に を装着し, 途中で Supelco 社製 Y字管を用いて 及び に分岐させ, それぞれを ECDに接続し, これを 2組 GCに組み込んだ, カラム温度: 50 (2 min) - 12 /min - 165 - 5 /min - 280 (32 min), 注入口温度: 250, 検出器温度: 300, キャリアーガス: N₂, 注入方法: スプリットレス, 注入量: 2 μL.

5. 分析方法

1) 抽出溶液の調製

細切した試料 20 g を量り取り, アセトン: *n*-ヘキサン (2:3) 混液 100 mL を加え 5 分間ホモジナイズした後, 吸引ろ過を行い, ろ液を減圧濃縮した. 残渣に酢酸エチル: *n*-ヘキサン (1:4) 混液 50 mL 及び 5 %塩化ナトリウム溶液 50 mL を加えて 5 分間振とうし, 酢酸エチル: *n*-ヘキサン層を分取した. 無水硫酸ナトリウムで脱水, ろ過後, 減圧濃縮を行い, 残留物に *n*-ヘキサン 2 mL を加え抽出溶液とした.

2) 固相抽出カラムによる精製

Florisil®ミニカラムをアセトン 5 mL, ジエチルエーテル 5 mL 及び *n*-ヘキサン 10 mL の順にコンディショニングを行った後, 抽出溶液 0.5 mL を負荷した. ジエチルエーテル: *n*-ヘキサン (3:2) 混液 15 mL で溶出したものを第 1 画分とし, 次にアセトン: *n*-ヘキサン (1:9) 混液 10 mL で溶出したものを第 2 画分とし, それぞれの画分を減圧濃縮後, *n*-ヘキサン 1 mL に溶解して GC-ECD 用試験溶液とした.

6. 添加回収試験

イチゴ, トマト, カボチャの 3 種の農産物を用いた. 細切した試料に各農薬を添加し, 2 時間放置後本法に従い添加回収試験を行った. 今回検討対象とした農薬の中に内分泌かく乱化学物質として疑われるものがあることから, 添加量は, 試料中濃度で塩素系農薬及びその他の農薬が 0.002 ppm から 0.01 ppm, ピレスロイド系農薬が 0.02 ppm から 0.10 ppm となるようにした. また, 46 農薬を同時に添加して試験を行うと, ピークが重なり定量が困難な場合があったことから, BHC, DDT など 33 農薬 (グループ A) とキャプタン, カプタホールなど 13 農薬 (グループ B) の 2 つのグループに分けて試験した.

結果及び考察

1. GC 条件の検討

GC-ECD で分析可能な比較的検出頻度の高い塩素系及びピレスロイド系等 46 農薬について検討を行った. ECD 検出器は分析感度は高いが選択性が低いという特性を持つことから, 1 つの注入口から Y字管を用いて極性の異なる 2 本のキャピラリーカラムに分岐して同時に分析を行うデュアルカラム方式を検討した.

カラムは SPB™-608, DB-5MS, NB-54E 及び NB-1701E の 4 種類について検討を行った. 塩素系農薬はこれらのカラムで 280 °C までにほとんど検出できたが, ピレスロイド系農薬のうちデルタメトリンの検出には 280 °C 以上の高温での分析が必要であった. NB-1701E は恒温分析による使用最高温度が 270 °C であり, NB-54E は使用最高温度が 280 °C であったが, 連続使用においてカラムの劣化が著しかった. 一方, SPB™-608 及び DB-5MS は繰り返し分析を行っても高い熱安定性を示しカラムブリードも少なか

Table 2. Elution Patterns of Pesticides using Florisil® cartridge

Elution Pattern	Elution (each solvent volume 10mL)				
	Dietyl ether : <i>n</i> - Hexane			Acetone : <i>n</i> - Hexane	
	1 : 4	3 : 2	4 : 1	1 : 9	1 : 4
A	+	-	-	-	-
B	+	+	-	-	-
C	-	+	-	-	-
D	-	+	+	-	-
E	-	-	+	+	-

+ = eluted - = not eluted

- A = -BHC, -BHC, -BHC, -BHC, Quintozene(PCNB), p,p'-DDE, p,p'-DDT, p,p'-DDD, o,p'-DDT, Aldrin, Endrin, Dieldrin, Heptachlor, Heptachlor epoxide, Vinclozolin, Endosulfan I, Chlornitrofen(CNP), Tetradifon, Dicofol, Halfenprox, Fenpropathrin, Bromopropylate, Bifenthrin, Cyhalothrin, Cypermethrin, Permethrin, Deltamethrin, Methoxychlor, Acrinathrin
- B = Dichloran(CNA), Dichlofluanid, Procymidone, Cyfluthrin, Flucythrinate, Fenvalerate, Fluvalinate, Chlorfenapyr
- C = Endosulfan, Endosulfan sulfate, Chlormethxytil
- D = Captan, Chlorobenzilate, Chloropropylate, Captafol
- E = Chlorothalonil(TPN), Iprodione

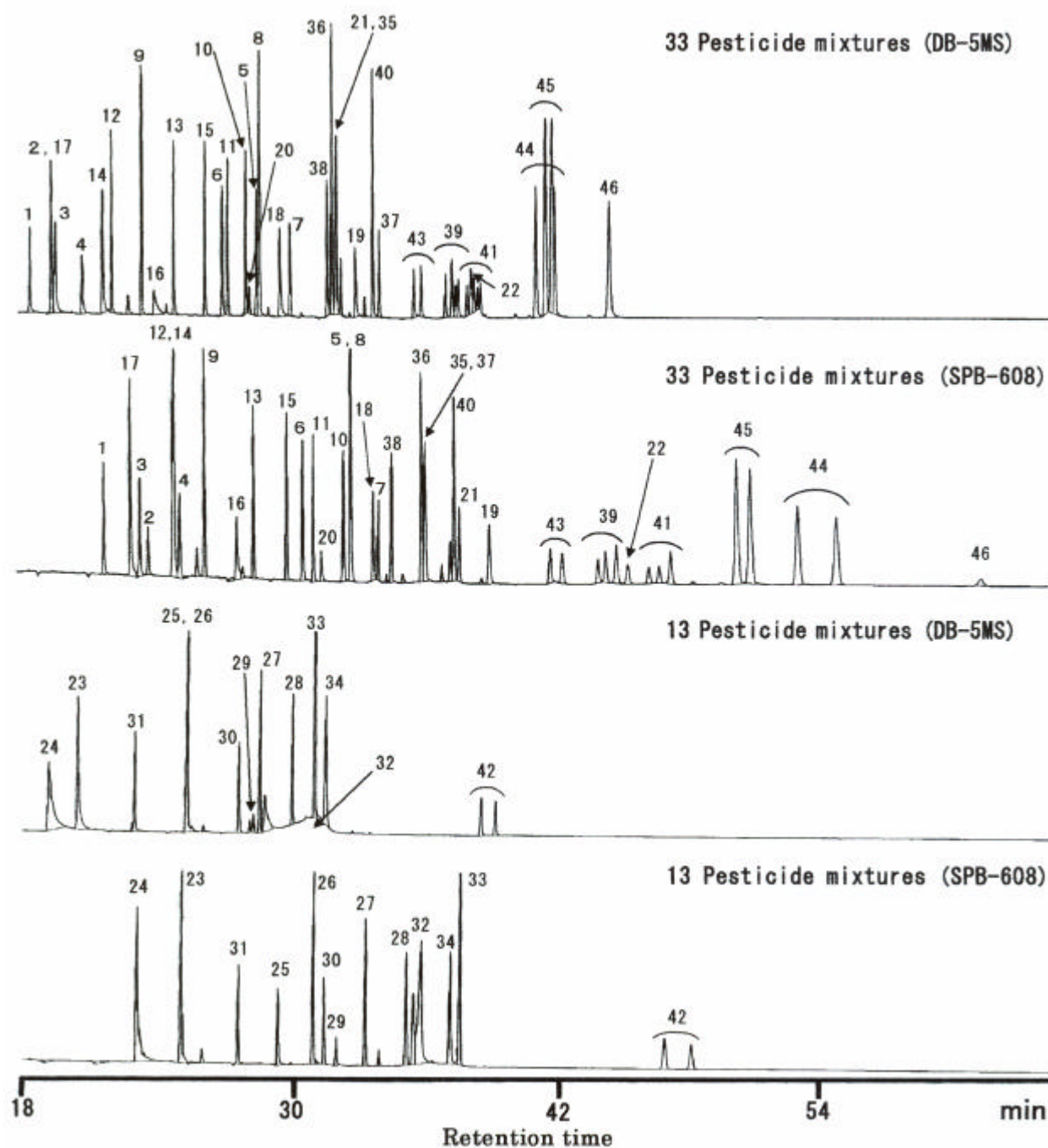


Fig.1. GC-ECD Chromatograms of Pesticide Standard Mixtures.
Peak Numbers Correspond to Number of Pesticides on Table 1.

った。また、SPB™-608 は中極性、DB-5MS は微極性であり、それぞれ特徴的な分離性能を発揮することから、両者を組み合わせることにより、より正確な農薬分析が可能と思われた。そこで、これら2本のカラムを選択した。その結果、*p,p'*-DDD(No. 5)と*o,p'*-DDT(No. 8)、フェンプロパトリン(No. 35)とアクリナトリン(No. 37)及びプロシミドン(No. 25)とキャプタン(No. 26)など相対保持時間の近接した農薬同士の分離が改善されたことから、各農薬の識別が容易となった(Fig. 1)。なお、本条件下で46農薬が約60分で検出された。

2. 固相抽出ミニカラムの検討

Sep-Pak Plus Florisil®, NH₂, Silica, Waters Accell™ Plus QMA 及び ENVI™-Carb の5種類のミニカラムについて検討した。Silica ミニカラムではほとんどの農薬が *n*-ヘキサンのみで溶出されるが、同時に試料由来の妨害成分も溶出された。また、QMA, NH₂ 及び色素除去などに用いられる ENVI™-Carb についてはアセトンを使用しないと溶出し、もしくはアセトンを用いても溶出しにくい農薬があり精製の効果も不十分であった。Florisil®ミニカラムは、妨害成分や色素の保持も強く、ジエチルエーテル：*n*-ヘキサン混液でほとんどの農薬を溶出できた。

そこで、Florisil®ミニカラムをコンディショニング後、

Table 3. Solvent System using Florisil® Catridge for the Purification of Pesticides

Pesticide	Recovery				
	Dietyl ether : <i>n</i> -Hexane		Acetone : <i>n</i> -Hexane		
	3 : 2	15 mL	1 : 9	10mL	
Chloropropylate	+	+	+	-	
Chlorothalonil(TPN)	-		+	+	+
Captan	+	+			+
Endosulfan	+	+	+		-
Iprodione	-		+	+	+
Captafol	+	+			+
Chlorobenzilate	+	+			+
Recovery ratio :	+++ = 90% <	++ = 50% <	+ = 10% <		- = not detected

各農薬を負荷し、ジエチルエーテル：*n*-ヘキサン混液次いでアセトン：*n*-ヘキサン混液を順次混合濃度の比率を変えてそれぞれ 10 mL ずつ流下させ溶出率を調べた (Table 2)。キャプタン、クロロベンジレート、クロロプロピレート、クロロタロニル (TPN)、イプロジオン及びカプタホルの 6 種類を除くほとんどの農薬がジエチルエーテル：*n*-ヘキサン (3 : 2) 混液までで溶出した。また、6 種類の農薬についても、アセトン：*n*-ヘキサン (1 : 9) 混液 10 mL までに全て溶出した。

さらにジエチルエーテル：*n*-ヘキサン (3 : 2) 混液及びアセトン：*n*-ヘキサン (1 : 9) 混液の溶出液量について検討した結果、ジエチルエーテル：*n*-ヘキサン (3 : 2) 混液を 15 mL とすることによりクロロプロピレートを含む 41 農薬が溶出され、TPN とイプロジオンはアセトン：*n*-ヘキサン (1 : 9) 混液 10 mL の第 2 画分に溶出された (Table 3)。

46 農薬すべてがこれら 2 画分で溶出できたが、両方の画分に分かれて溶出されたクロロベンジレート、キャプタン及びカプタホルについては、第 1、第 2 画分から得られた検出値を合算することで定量可能であった。

実際の農作物では、それぞれの画分に食品成分も溶出し、農薬の分析を妨害することが想定されたが、今回の精製条件下では食品成分はアセトンを含む第 2 画分に多く溶出される傾向が見られ、第 1 画分に溶出する農薬のほとんどは妨害を受けることなく分析が可能であった。

また、第 2 画分にのみ溶出する TPN、イプロジオン等の農薬も、デュアルカラム分析の利点を活かして妨害を避け定性、定量が可能であった。

3. 添加回収試験

添加回収結果を Table 1 に示した。各農薬の添加回収率は、SPB™-608 及び DB-5MS の各カラムによる分析結果の平均値から求めた。また、夾雑ピークにより定量値が大きく異なった場合は、より低い定量値を示したカラムから得られた値を用いた。

イチゴでは γ -BHC、 δ -BHC、アルドリル、PCNB が、トマトではアルドリル、ヘプタクロル、キャプタン、カプタホルが、カボチャでは γ -BHC、ヘプタクロル、ハル

フェンブロックス、イプロジオンの回収率が 50 % 程度であった。また、カボチャでは TPN が検出されず、キャプタン、ジクロフルアニドもほとんど検出されなかったが、その他の農薬はいずれも 70 % から 120 % の回収率であり、良好な結果であった。キャプタン、カプタホル及び TPN では、試料に酸を加えなかったことから植物中の酵素により分解され^{3, 4)}、またジクロフルアニドは植物体中の SH 化合物と反応しやすいことから、これら農薬の回収率が低下したのと考えられた³⁾。さらに今回は、試料への農薬の添加量を少なくしたため、操作中に損失したことも回収率低下の一因であると考えられた。

ま と め

デュアルカラム方式による GC-ECD を用いて分析が可能な塩素系農薬 32 種、ピレスロイド系農薬 11 種、及びその他の農薬 3 種の合計 46 農薬について簡易な精製により短時間で測定する方法について検討を行った。

1 台の GC に SPB™-608 及び DB-5MS を用いたデュアルカラムを 2 組装着することで、フロリジルミニカラムで精製、画分した 2 つの試験溶液を同時に注入して分析することから、1 検体につき 46 農薬を 1 時間程度で精度良く定性、定量することができた。各農薬を 3 種の青果物に添加し、本法に従い試験を行ったところ、ほとんどの農薬の回収率が 70 % から 120 % と良好な結果が得られた。

本法は、多数の検体を処理する日常の検査業務に適用でき、農薬の残留実態を迅速に把握できる方法の一つと考えられる。

文 献

- 1) 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)。
- 2) 残留農薬簡易分析法開発検討委員会：食品衛生研究、**45**, 31-49, 1995。
- 3) 農薬残留分析法研究班編：最新農薬の残留分析法、99-103, 196-198, 691-694, 1995, 中央法規出版、東京。
- 4) 上路雅子、小林裕子、中村幸二：残留農薬分析法、

- 86-87, 526-529, 533-536, 2002, ソフトサイエンス社 .
- 5) 近藤治美, 天川映子, 佐藤寛, 他: 食衛誌, **44**, 161-167, 2003 .
- 6) 上野英二, 大島晴美, 斉藤勲, 他: 食衛誌, **41**, 178-187, 2000 .
- 7) 上野英二, 大島晴美, 斉藤勲, 他: 食衛誌, **42**, 385-393, 2001 .
- 8) 高橋京子, 田中康夫, 細井志郎, 他: 食衛誌, **43**, 127-132, 2002 .