

# 固相抽出法を用いた農産物中残留農薬のGC/MSによる多成分一斉分析

誌名	食品衛生学雑誌
ISSN	00156426
著者	秋山, 由美 矢野, 美穂 三橋, 隆夫
巻/号	37巻6号
掲載ページ	p. 351-362
発行年月	1996年12月

## 報 文

固相抽出法を用いた農産物中残留農薬の  
GC/MS による多成分一斉分析

(平成 8 年 5 月 16 日受理)

秋山由美\*<sup>1</sup> 矢野美穂\*<sup>1</sup> 三橋隆夫\*<sup>1</sup>  
武田信幸\*<sup>1</sup> 辻 正彦\*<sup>1</sup>Simultaneous Determination of Pesticides in Agricultural Products by  
Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography-Mass SpectrometryYumi AKIYAMA, Miho YANO, Takao MITSUHASHI, Nobuyuki TAKEDA  
and Masahiko TSUJI(Hyogo Prefectural Institute of Public Health: 2-1-29,  
Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652, Japan)

A method was developed for determining 107 pesticides in agricultural products. Residues were extracted from samples with acetonitrile, and coextractives were removed with both ODS and PSA mini-column cleanup. Analysis was performed by gas chromatography with mass spectrometry. Positive analytes were confirmed on the basis of retention time and relative response ratio of two fragment ions. A limit of detection of 0.01 ppm was available for all compounds with two injections per sample for both scan and selected ion monitoring mode analyses.

Recovery data were obtained by fortifying 3 matrices (brown rice, lemon, and spinach) at 0.1 ppm. Recoveries were more than 50% except for 6 pesticides, whose recoveries varied among the different matrices. The method demonstrated acceptable performance for screening analysis (including polar compounds). The method was applied to 157 samples. From 69 samples, 34 pesticides were detected at levels of more than 0.01 ppm. No sample was contaminated to a level that would contravene the Food Sanitation Law in Japan.

(Received May 16, 1996)

**Key words:** 農産物 agricultural product; 農薬 pesticide; 一斉分析 simultaneous determination; 固相抽出 solid phase extraction (SPE); ガスクロマトグラフィー-質量分析法 (GC/MS)

## 緒 言

厚生省による残留農薬基準の設定作業は現在第 5 次改正に至っており、平成 8 年 3 月 1 日より規制対象農薬は 108 種に拡大された<sup>1)</sup>。今後も新たな農薬の追加が予定されているが、公定法は個別分析が主体であるため、短時間に多成分を同時にスクリーニングできる分析法の開発が急がれている。著者らはこれまで、亜鉛沈殿法による精製を基にした 2 系統の抽出法により、多成分分析に対応してきた<sup>2)</sup>。しかし、抽出溶剤に用いてき

たジクロロメタンの排水規制が厳しくなったこと、及びジクロロメタン抽出では対応できない極性の高い農薬が規制対象中に増えてきたことから、より広範囲の農薬に対応できるジクロロメタンを用いない分析法の開発が必要となった。

近年、多成分一斉分析のための前処理法として、ゲルろ過法 (GPC)<sup>3), 4), \*2</sup> や超臨界抽出法 (SFE)<sup>5), 6)</sup> を導入して自動化する方法が盛んに検討されているが、高価な機

\*<sup>1</sup> 兵庫県立衛生研究所: 〒652 神戸市兵庫区荒田町 2-1-29\*<sup>2</sup> 小川正彦, 坂井 亨, 大熊和行, 佐藤 誠, 志村恭子, 森善宜, 倉田英雄, 中澤裕之: 日本薬学会第 116 年会講演要旨集 3, p. 170 (1996. 3. 金沢).

器の整備が必要であり、まだ全国的に普及していない。一方、固相抽出法 (SPE) は種々の検体の前処理に広く活用されており、シリカゲル、フロリジル、活性炭に加え<sup>7)~9)</sup>、イオン交換樹脂を用いた精製法も報告されている<sup>10), 11), \*3</sup>。しかし、アセフェート、メタミドホスなど極性の高い農薬の回収率が低く、これらには適用できない<sup>7), 8)</sup>、脂肪酸などを多量に含む穀類に対する精製法が検討されていない<sup>9), 10)</sup>、抽出にジクロロメタンが使用されている<sup>11), \*3</sup> など、いくつかの欠点を有している。また、ガスクロマトグラフによる測定法は、従来の複数の元素選択的な検出器を用いる方法から、ガスクロマトグラフ-質量分析計で一斉分析する方法へと移行しつつある<sup>5), 9), 11), \*2, \*3</sup>。

SPE と GC/MS を組み合わせた多成分一斉分析法は、Luke ら<sup>11), \*3</sup> 及び Fillion ら<sup>9)</sup> が報告しているが、前者はジクロロメタンを使用している、後者は、活性炭-セライトのミニカラムによる精製のみで、脂肪酸含量の多い米などの穀類への適用が困難である、などの問題点が残っている。

そこで、著者らは抽出にアセトニトリルを用い、2種の SPE 用ミニカラム (ODS 及び PSA) を組み合わせて脂肪酸などを除去し、穀類への適用を可能にした。更に、GC/MS において、必要なイオンクロマトグラムを分析終了時に自動的に印刷するマクロプログラムを作成し、定量及び確認の迅速化を図った。その結果、84種の規制農薬を含む 107種の農薬の迅速なスクリーニング分析が可能になった。また本法を用いて、国内産及び輸入農産物 157 検体について残留実態調査を行った。

## 実験方法

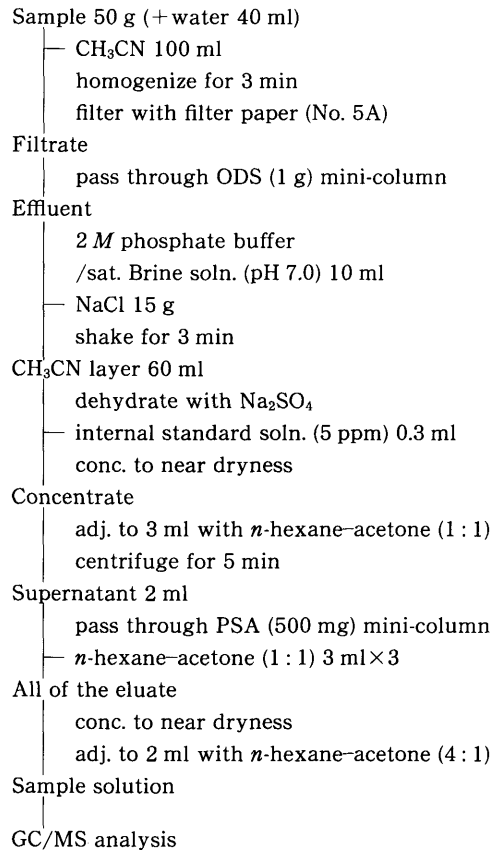
### 1. 試料

平成7年度に兵庫県内で市販されていた 46 種農産物 (穀類 4, 豆類 2, 野菜 23, 果実 17) 157 検体 (国内産 89, 輸入品 68) を用いた。

### 2. 試薬及び試液

有機リン系農薬 (36 種): メタミドホス, ジクロロホス, アセフェート, エトプロホス, モノクロトホス, チオメトン, ジメトエート, テルブホス, ホノホス, ダイアジノン, エトリムホス, イプロベンホス, クロルピリホスメチル, パラチオンメチル, トルクロホスメチル, フェントロチオン, ピリミホスメチル, マラチオン, フェンチオン, クロルピリホス, パラチオン, クロルフェンビンホス (*Z, E* 体の混合品), イソフェンホス, フェントエート, キナルホス, ホキシム, バミドチオン, テトラクロルビンホス, プロチオホス, イソキサチオン, フェンスルホチオン, トリアゾホス, エディフェンホス, ホスメット, EPN, ホサロン

\*3 武田 寿, 小林昭彦, 二上朗子, 渡辺芳則: 日本食品衛生学会第 69 回学術講演会講演要旨集, p. 63 (1995. 5, 東京)。



Scheme 1. Sample preparation method for multipesticide residue analysis

有機塩素系農薬 (11 種): HCH ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -の 4 種), DDT 類 (*p, p'*-DDT, *p, p'*-DDD, *p, p'*-DDE), ヘプタクロル, ヘプタクロルエポキシド, アルドリン, ディルドリン, エンドリン, ジコホール, キャプタン, カプタール, クロルベンジレート

ピレスロイド系農薬 (10 種): ピレトリン, シハロトリン, ペルメトリン, シフルトリン, シベルメトリン, フルシトリネート, フェンバレレート, フルバリネート, デルタメトリン, トラロメトリン

*N*-メチルカーバマイト系農薬 (12 種): アルジカルブ, オキサミル, メソミル, メトルカルブ, イソプロカルブ, フェノプカルブ, プロボキスル, ベンダイオカルブ, カルボフラン, エチオフェンカルブ, カルバリル, メチオカルブ

含窒素系農薬 (34 種): クロルプロファム, スエップ, ピリミカーブ, プロパニル, メトリブジン, エスプロカルブ, チオベンカルブ, ジェトフェンカルブ, トリアジメホン, ベンディメタリン, トリアジメノール, トリクラミド, フルトラニル, プレチラクロール, ミクロ

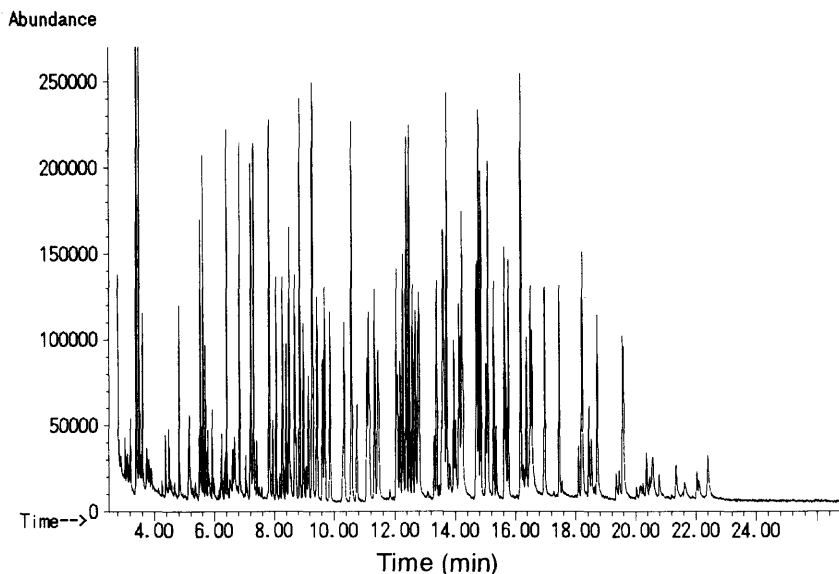


Fig. 1. Total-ion chromatogram for standard mixture of 108 pesticides

Table 1. Problems on GC Analysis

Detection of alternative products of pesticide	
1) Determined by original compound	Metolcarb, Isoprocarb, Methomyl, Fenobucarb, Propoxur, Bendiocarb, Carbofuran, Ethiofencarb, Carbaryl, Methiocarb, Swep, Ethoxyquin, Dichlofluanid, Iprodione metabolite, Captafol
2) Determined by degraded compound	Aldicarb, Oxamyl, Clofentezine, Phoxim, Dicofol
Tailing	
	Methamidophos, Acephate, Monocrotophos, Vamidothion, Propamocarb, Thiabendazol, Imazalil, Propanil
Low sensitivity	
	Oxamyl, Methomyl, Propamocarb, Pyrethrins, Cyfluthrin, Cypermethrin, Flucythrinate, Fenvalerate, Fluvalinate, Pyrazoxyfen, Deltamethrin, Tralomethrin

ブタニル, プロフェジン, メプロニル, クロロニトロフェン, プロピコナゾール, レナシル, メフェナセット, フェナリモル, ビテルタノール, ピリダベン, ピリフェノックス (Z, E 体の混合品), ピラゾキシフェン, クロフェンテジン, プロパモカルブ, エトキシキン, ジクロフルアニド, キノメチオネート, イプロジオン及びその代謝物, イマザリル, チアベンダゾール

その他 (5 種): ジメチピン, メトブレン, イソプロチオラン, オルトフェニルフェノール, ジフェニル

各農薬標準原液: 各農薬標準品 (和光純薬工業(株)製及び林純薬工業(株)製) 25 mg をアセトンに溶かして 100 ml とした (250 µg/ml). ただし, アセトン中で不安定なエトリムホス, ジコホール及びイプロジオンは *n*-ヘキサンに溶解した.

農薬標準混合溶液: 108 種農薬を 6 グループに分け,

標準混合アセトン溶液 (10 µg/ml, 各々約 20 種の農薬を含む.) を調製した. 更に, GC/MS 用として, 108 種の全農薬 (0.1~1 µg/ml) 及び内部標準物質 (トリフェニルリン酸 0.5 µg/ml) を含む *n*-ヘキサン-アセトン (4:1) 混液を用時調製した.

食塩飽和 2 M リン酸緩衝液 (pH 7): リン酸水素二カリウム 211 g とリン酸二水素カリウム 121 g を水約 500 ml に溶解し, 更に食塩約 200 g を添加した. pH を 7.0 に調整した後, 水を加えて 1 L とした.

SPE ミニカラム: ODS はアイソルート C18 (EC) (1 g, 6 ml, IST 社製) を用い, アセトニトリル 5 ml を 2 回, 水 5 ml を 2 回負荷して調製した. SAX 及び PSA はポンドエルト (100 mg, 1 ml 及び 500 mg, 3 ml, Varian 社製) を, NH<sub>2</sub> はセップパック (100 mg, 1 ml, Waters 社製) を用い, *n*-ヘキサン-アセトン

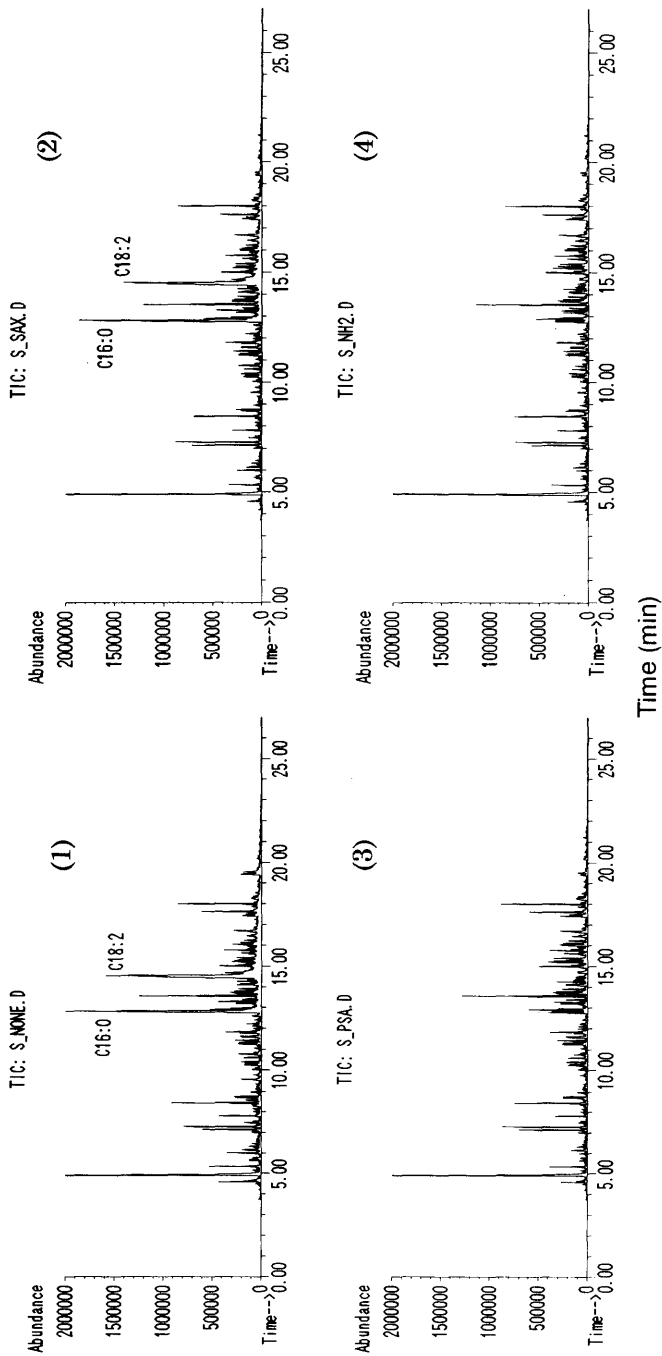


Fig. 2. Total-ion chromatograms for sample extract before (1) and after purification with ion-exchange mini-column SAX (2), PSA (3), NH<sub>2</sub> (4)

Table 2. Elution Pattern of Pesticides from PSA and NH<sub>2</sub> Cartridge

Pesticide	PSA (%)		NH <sub>2</sub> (%)	
	First	Second	First	Second
Oxamyl	79.8	0.0	82.1	0.0
Acephate	41.2	22.8	31.5	43.6
Propanil	79.4	0.0	61.1	0.0
Metribuzin	86.4	0.0	78.4	0.0
Dichlofluanid	61.6	0.0	42.1	0.0
Thiabendazol	80.8	0.0	66.8	0.0
Chinomethionate	14.0	0.0	0.0	0.0
Trichlamide	50.1	8.9	6.9	15.9
Vamidothion	93.2	0.0	73.2	0.0
Captafol	80.5	0.0	63.1	0.0

One  $\mu$ g of each pesticide was added to 100 mg cartridge.

First: Add 2 ml + Elute 1 ml

Second: Elute 1 ml  $\times$  2

Solvent for both addition and elution is *n*-hexane-acetone (1 : 1).

(1 : 1) 混液 1 ml (500 mg には 3 ml) を 2 回負荷して調製した。

アセトニトリル, *n*-ヘキサン, アセトン及び硫酸ナトリウム (無水) は和光純薬工業 (株) 製残留農薬分析用を, その他は試薬特級を用いた。

### 3. 装置

ブレンダー: Oster 社製 Osterizer

濃縮装置: Zymark 社製 Turbo Vap 500

ガスクロマトグラフ-質量分析計: Hewlett Packard 社製ガスクロマトグラフ HP5890 シリーズ II 型及び質量分析計 HP5972 型

### 4. 試験溶液の調製法

試料 50 g (野菜, 果実類は細切り, かんきつ類は酢酸ナトリウム 3~5 g を添加, 穀類, 豆類は粉碎後水 40 ml を添加) にアセトニトリル 100 ml を加えて, 3 分間ホモジナイズした後, ろ紙 (No. 5A) でろ過した。ろ液を ODS ミニカラム (1 g) に通した後, 食塩飽和 2 M リン酸緩衝液 (pH 7) 10 ml 及び食塩 15 g を加えて 3 分間振とうし, 塩析によりアセトニトリル層を水層から分離した。アセトニトリル層 60 ml を分取し, 内部標準物質としてトリフェニルリン酸 (5  $\mu$ g/ml) 0.3 ml を添加した。無水硫酸ナトリウムで脱水後, 濃縮装置で 0.5 ml まで濃縮し, 更に窒素気流下で乾固直前まで濃縮した。食塩が析出してくるため, *n*-ヘキサン-アセトン (1 : 1) 混液で 3 ml とした後, 遠心分離 (3,000 rpm, 5 分) し, 上澄液を試料抽出液とした。

試料抽出液 2 ml を PSA ミニカラム (500 mg) に負荷し, *n*-ヘキサン-アセトン (1 : 1) 混液 3 ml で 3 回溶出した。負荷液, 溶出液すべてを合わせて乾固直前まで濃縮し, *n*-ヘキサン-アセトン (4 : 1) 混液で 2 ml とし, 試験溶液とした。操作の概略を Scheme 1 に示した。

### 5. GC/MS 分析条件

カラム: J&W Scientific 社製キャピラリーカラム DB-5 ms (30 m  $\times$  0.25 mm i.d., 膜厚 0.10  $\mu$ m)

カラム温度: 50°C (2 min)  $\rightarrow$  30°C/min  $\rightarrow$  170°C (4 min)  $\rightarrow$  10°C/min  $\rightarrow$  270°C (15 min)

注入口温度: 250°C, インターフェイス温度: 280°C  
イオン化電圧: 70 eV

キャリアーガス圧力プログラム: 13 psi (7 min)

(初期流量 1.4 ml/min から徐々に低下させ, 6 分後より 0.8 ml/min の定流量とした。)

注入量: 1  $\mu$ l (スプリットレス注入法)

バージョン時間: 1.5 min

### 結果及び考察

#### 1. GC/MS による分析

本法では, 誘導体化せずに GC でピークの検出が可能なる農薬を検討対象とした。Fig. 1 に, 108 種農薬 (各 0.5 ng) を GC/MS の SCAN モードで分析したときのトータルイオンクロマトグラム (TIC) を示した。GC の昇温を 50°C から開始することによって, アルジカルブ及びオキサミルのニトリル分解物を保持時間 2.8 分及び 3.2 分に検出できた。Table 1 に, GC 分析中に分解して複数のピークが検出される農薬, ピークがテーリングしやすい農薬及び検出感度の低い農薬の一覧を示した。カーバメイト系農薬など複数のピークが検出される場合は, 強度が大きく, 最も検出しやすいピークを定量に用いた。また, 極性の高い農薬にピークがテーリングする傾向が認められた。ガスクロマトグラフへ注入する試験溶液の溶媒は, 気化容積が小さい無極性の *n*-ヘキサンが使用しやすいが<sup>12)</sup>, 極性の高いアセフェート, メタミドホスなどの溶解性が低いため, *n*-ヘキサン-アセトン (4 : 1) の混液を用いた。

**Table 3.** Recoveries of Organophosphorus Pesticides Added to Agricultural Products

Organophosphorus pesticide	Recovery (% , mean $\pm$ SD, $n=3$ )		
	Brown rice	Lemon	Spinach
Phoxim	100.8 $\pm$ 9.2	101.8 $\pm$ 6.5	92.4 $\pm$ 3.7
Methamidophos	73.5 $\pm$ 6.1	64.3 $\pm$ 2.8	66.4 $\pm$ 3.7
Acephate	81.3 $\pm$ 8.1	51.9 $\pm$ 3.0	58.8 $\pm$ 5.6
Dichlorvos	67.5 $\pm$ 2.5	97.8 $\pm$ 5.4	63.9 $\pm$ 1.7
Ethoprophos	96.3 $\pm$ 5.6	94.0 $\pm$ 4.0	104.4 $\pm$ 3.1
Monocrotophos	92.5 $\pm$ 2.6	81.1 $\pm$ 6.3	94.1 $\pm$ 1.2
Thiometon	90.2 $\pm$ 3.9	91.9 $\pm$ 2.3	55.8 $\pm$ 6.4
Dimethoate	95.5 $\pm$ 8.3	102.9 $\pm$ 0.8	104.0 $\pm$ 3.1
Terbufos	94.1 $\pm$ 1.5	88.9 $\pm$ 3.7	94.1 $\pm$ 2.4
Fonofos	95.5 $\pm$ 3.4	90.6 $\pm$ 4.9	102.6 $\pm$ 3.4
Diazinon	101.5 $\pm$ 1.7	91.7 $\pm$ 6.2	110.8 $\pm$ 1.9
Etrimfos	103.8 $\pm$ 0.6	96.1 $\pm$ 4.6	110.4 $\pm$ 0.7
Iprobenfos	95.0 $\pm$ 4.1	100.1 $\pm$ 3.0	105.1 $\pm$ 1.2
Chlorpyrifosmethyl	91.4 $\pm$ 4.6	92.0 $\pm$ 3.2	87.6 $\pm$ 2.8
Parathionmethyl	103.9 $\pm$ 4.6	100.2 $\pm$ 2.8	111.4 $\pm$ 2.2
Tolclofosmethyl	95.7 $\pm$ 2.8	91.0 $\pm$ 4.5	96.8 $\pm$ 6.4
Fenitrothion	94.1 $\pm$ 3.9	98.3 $\pm$ 4.7	116.4 $\pm$ 0.9
Pirimiphosmethyl	93.3 $\pm$ 1.0	93.5 $\pm$ 3.5	107.1 $\pm$ 2.5
Malathion	98.2 $\pm$ 1.1	97.2 $\pm$ 1.8	107.2 $\pm$ 2.4
Fenthion	94.7 $\pm$ 2.5	108.8 $\pm$ 6.8	92.6 $\pm$ 1.7
Chlorpyrifos	93.8 $\pm$ 2.9	93.5 $\pm$ 4.5	106.9 $\pm$ 0.1
Parathion	101.3 $\pm$ 3.2	120.5 $\pm$ 2.9	113.0 $\pm$ 1.7
Isofenphos	98.7 $\pm$ 2.5	100.4 $\pm$ 4.6	91.2 $\pm$ 1.7
Chlorfenvinphos	101.6 $\pm$ 4.9	105.4 $\pm$ 3.4	103.6 $\pm$ 2.8
Phenthoate	93.8 $\pm$ 1.8	95.1 $\pm$ 5.8	100.4 $\pm$ 2.1
Quinalphos	101.1 $\pm$ 1.6	98.8 $\pm$ 4.9	102.1 $\pm$ 1.7
Vamidothion	84.5 $\pm$ 3.6	85.3 $\pm$ 5.0	90.9 $\pm$ 4.2
Tetrachlorvinphos	87.5 $\pm$ 4.2	86.5 $\pm$ 4.1	100.0 $\pm$ 1.8
Prothiofos	85.7 $\pm$ 2.6	92.3 $\pm$ 4.4	103.0 $\pm$ 1.6
Isoxathion	101.2 $\pm$ 5.9	114.4 $\pm$ 3.8	127.8 $\pm$ 4.0
Fensulfothion	100.3 $\pm$ 0.6	102.8 $\pm$ 4.7	129.3 $\pm$ 2.1
Triazophos	98.1 $\pm$ 5.4	98.6 $\pm$ 3.9	111.9 $\pm$ 2.2
Edifenphos	96.1 $\pm$ 5.3	98.5 $\pm$ 3.5	123.8 $\pm$ 3.6
Phosmet	99.5 $\pm$ 2.5	86.9 $\pm$ 7.0	122.2 $\pm$ 2.6
EPN	113.0 $\pm$ 3.7	113.5 $\pm$ 8.6	139.5 $\pm$ 8.9
Phosalone	122.0 $\pm$ 8.1	111.6 $\pm$ 5.0	122.3 $\pm$ 1.3

本法では測定農薬数が多く、ピークが接近して検出されるため、全農薬を一度に selected ion monitoring (SIM) モードで分析するためのタイムプログラムの設定は困難であった。また、農産物中に測定対象外の農薬が存在している場合もあり、未知ピークの同定を可能にするために、SCAN モードでの分析を主体とした。そして、各農薬の保持時間、マススペクトル及び特徴的な 2 種類のフラグメントイオン（ターゲットイオンとクオリファイアイオン）の強度比によりピークを確認した。検量線はターゲットイオンのピーク面積を用いて、0.1, 0.5, 1 ng の 3 点で内部標準法により作成した。また、すべての測定対象農薬の保持時間近辺での 2 種類のイ

オンクロマトグラム、ピーク面積及び定量結果を、分析終了時に自動的に印刷する（10 農薬 / 1 ページ）マクロプログラムを作成し、データの確認及び定量の迅速化を図った。

厚生省からの通知では<sup>13)</sup>、検出限界 0.01 ppm 程度での分析を要求されている農薬が多い。SCAN モードでの分析ではオキシム型カーバメイト、ピレスロイドなど一部の農薬は 0.1 ng（試料中 0.01 ppm に相当）の検出が困難であったので、SIM モードでの分析条件を追加設定した。従って、1 試料につき、SCAN 及び SIM モードで 2 回分析することにより、全農薬について検出限界 0.01 ppm の達成が可能になった。

**Table 4.** Recoveries of Organonitrogen Pesticides Added to Agricultural Products

Organonitrogen pesticide	Recovery (% , mean $\pm$ SD, $n=3$ )		
	Brown rice	Lemon	Spinach
Clofentezine	67.1 $\pm$ 0.8	64.9 $\pm$ 1.9	71.7 $\pm$ 2.8
Propamocarb	89.6 $\pm$ 2.3	30.6 $\pm$ 4.4	92.2 $\pm$ 5.5
Chlorpropham	92.4 $\pm$ 1.2	87.6 $\pm$ 4.0	100.9 $\pm$ 0.8
Ethoxyquin	44.1 $\pm$ 7.8	29.2 $\pm$ 8.3	118.3 $\pm$ 10.7
Swep	87.4 $\pm$ 1.9	107.8 $\pm$ 4.9	102.3 $\pm$ 0.8
Pirimicarb	96.7 $\pm$ 1.3	94.2 $\pm$ 2.3	101.6 $\pm$ 0.6
Propanil	102.5 $\pm$ 1.6	88.1 $\pm$ 4.6	100.2 $\pm$ 6.0
Metribuzin	72.6 $\pm$ 3.5	84.2 $\pm$ 2.1	87.5 $\pm$ 2.0
Esprocarb	94.0 $\pm$ 4.6	96.6 $\pm$ 4.4	102.7 $\pm$ 1.9
Dichlofluanid	35.1 $\pm$ 1.8	52.4 $\pm$ 6.0	52.2 $\pm$ 11.8
Thiobencarb	98.1 $\pm$ 2.5	95.9 $\pm$ 5.3	103.9 $\pm$ 1.0
Diethofencarb	53.4 $\pm$ 7.7	80.6 $\pm$ 2.0	60.9 $\pm$ 0.5
Triadimefon	101.6 $\pm$ 4.5	99.8 $\pm$ 8.8	105.0 $\pm$ 3.1
Pendimethalin	92.9 $\pm$ 2.1	96.4 $\pm$ 4.4	114.9 $\pm$ 0.9
Thiabendazol	94.9 $\pm$ 2.6	72.9 $\pm$ 3.0	104.0 $\pm$ 2.1
Triadimenol	147.5 $\pm$ 5.5	108.8 $\pm$ 4.3	138.3 $\pm$ 1.4
Chinomethionate	5.1 $\pm$ 1.1	6.2 $\pm$ 0.5	3.1 $\pm$ 0.5
Pyrifenoxy	97.0 $\pm$ 6.4	89.4 $\pm$ 5.5	86.3 $\pm$ 2.7
Trichlamide	76.9 $\pm$ 10.4	109.7 $\pm$ 3.7	122.1 $\pm$ 3.2
Flutolanil	105.1 $\pm$ 4.2	106.1 $\pm$ 3.3	135.6 $\pm$ 1.1
Imazalil	86.8 $\pm$ 5.9	76.5 $\pm$ 5.3	88.3 $\pm$ 0.7
Pretilachlor	101.4 $\pm$ 2.9	98.2 $\pm$ 4.5	109.6 $\pm$ 2.2
Myclobutanil	105.6 $\pm$ 6.1	82.1 $\pm$ 6.7	109.4 $\pm$ 0.5
Buprofezin	89.5 $\pm$ 1.6	94.6 $\pm$ 4.4	105.4 $\pm$ 0.8
Mepronil	103.5 $\pm$ 1.9	101.4 $\pm$ 5.7	116.6 $\pm$ 1.9
Chlornitrofen	126.6 $\pm$ 2.8	113.1 $\pm$ 4.9	131.3 $\pm$ 7.7
Lenacil	111.1 $\pm$ 3.5	92.4 $\pm$ 3.6	110.7 $\pm$ 1.0
Propiconazole	93.1 $\pm$ 2.2	88.2 $\pm$ 4.8	107.6 $\pm$ 2.3
Iprodione	92.3 $\pm$ 8.4	82.2 $\pm$ 4.3	99.6 $\pm$ 2.2
Iprodione metabolite	118.4 $\pm$ 13.4	113.0 $\pm$ 8.1	110.6 $\pm$ 5.8
Mefenacet	108.7 $\pm$ 3.0	104.0 $\pm$ 4.0	121.7 $\pm$ 2.4
Fenarimol	108.2 $\pm$ 7.0	91.2 $\pm$ 4.1	111.4 $\pm$ 1.4
Bitertanol	103.4 $\pm$ 4.8	114.6 $\pm$ 4.9	128.1 $\pm$ 3.2
Pyridaben	121.5 $\pm$ 1.1	105.3 $\pm$ 5.7	121.9 $\pm$ 1.9
Pyrazoxyfen	116.9 $\pm$ 4.3	131.6 $\pm$ 6.2	152.5 $\pm$ 4.4

## 2. 試料前処理法の検討

### 2.1 アセトニトリル抽出-ODS 精製法の適用

ジクロロメタンを使用せずに、極性農薬を含む多成分を同時に抽出できる方法として、カリフォルニア州政府農務省 (CDFA) で行われている CDFA 法<sup>10)</sup> があり、それに若干の改良を加えた。試料のアセトニトリル抽出液は、ODS ミニカラムを通過させることによって、極性の低い植物成分、高級脂肪酸エステル類などが除去できるとされているが<sup>10), 11)</sup>、ほうれんそうなどの緑色の濃い野菜及び米、大豆などの穀類では過負荷の傾向が見られたので、充てん量 1 g の ODS を使用した。また、レモンなど酸性の強いかんきつ類では、ODS 通過液に

pH 7 のリン酸緩衝液を加えても pH は 4~5 までしか上昇せず、イマザリル、チアベンダゾールなどの塩基性物質の回収率が低下した。そこで、かんきつ類では中和を目的として、アセトニトリル抽出時に酢酸ナトリウム 3~5 g を添加した<sup>14)</sup>。

### 2.2 イオン交換樹脂ミニカラムの選択

試料抽出液の精製法として、CDFA 法では HPLC で分析するカーバメイト系農薬用に NH<sub>2</sub> ミニカラムを使用している<sup>10)</sup>。また、米国食品医薬品局 (FDA) で行われている改良 Luke II 法では、SAX 及び PSA ミニカラムが用いられている\*<sup>3)</sup>。そこで、これら 3 種のイオン交換樹脂ミニカラムによる精製効果を比較した。すなわ



**Table 5.** Recoveries of *N*-Methylcarbamate Pesticides Added to Agricultural Products

<i>N</i> -methylcarbamate pesticide	Recovery (% , mean $\pm$ SD, $n=3$ )		
	Brown rice	Lemon	Spinach
Aldicarb	112.3 $\pm$ 0.5	91.1 $\pm$ 3.3	93.2 $\pm$ 3.6
Oxamyl	73.5 $\pm$ 6.1	12.0 $\pm$ 20.8	44.8 $\pm$ 12.2
Metolcarb	91.2 $\pm$ 6.7	94.9 $\pm$ 1.5	95.0 $\pm$ 1.6
Isoproc carb	94.8 $\pm$ 4.4	71.9 $\pm$ 4.0	97.8 $\pm$ 4.0
Methomyl	108.1 $\pm$ 9.1	81.4 $\pm$ 3.4	118.6 $\pm$ 5.8
Fenobucarb	98.1 $\pm$ 3.9	97.3 $\pm$ 8.0	101.9 $\pm$ 2.3
Propoxur	86.2 $\pm$ 5.3	102.6 $\pm$ 6.0	106.2 $\pm$ 1.3
Bendiocarb	71.1 $\pm$ 6.9	106.8 $\pm$ 3.9	103.6 $\pm$ 3.2
Carbofuran	72.3 $\pm$ 8.3	96.3 $\pm$ 3.1	98.2 $\pm$ 5.7
Ethiofencarb	53.1 $\pm$ 7.9	68.5 $\pm$ 2.0	22.6 $\pm$ 8.9
Carbaryl	85.5 $\pm$ 15.8	97.9 $\pm$ 5.3	88.9 $\pm$ 1.9
Methiocarb	68.8 $\pm$ 11.4	100.0 $\pm$ 1.6	96.9 $\pm$ 4.9

**Table 6.** Recoveries of Organochlorine Pesticides Added to Agricultural Products

Organochlorine pesticide	Recovery (% , mean $\pm$ SD, $n=3$ )		
	Brown rice	Lemon	Spinach
$\alpha$ -HCH	96.5 $\pm$ 3.6	66.4 $\pm$ 2.6	82.2 $\pm$ 2.1
$\beta$ -HCH	95.6 $\pm$ 3.4	72.2 $\pm$ 5.0	67.9 $\pm$ 4.6
$\gamma$ -HCH	88.3 $\pm$ 2.8	105.2 $\pm$ 3.7	103.1 $\pm$ 4.3
$\delta$ -HCH	73.9 $\pm$ 6.2	75.2 $\pm$ 4.7	86.6 $\pm$ 7.7
Heptachlor	83.0 $\pm$ 5.3	87.1 $\pm$ 4.8	90.8 $\pm$ 2.9
Aldrin	70.5 $\pm$ 4.1	74.9 $\pm$ 5.6	79.2 $\pm$ 2.5
Heptachlor epoxide	93.8 $\pm$ 1.9	87.3 $\pm$ 5.4	99.2 $\pm$ 2.5
Captan	67.7 $\pm$ 11.2	82.7 $\pm$ 5.4	75.1 $\pm$ 5.4
<i>p,p'</i> -DDE	75.8 $\pm$ 4.0	90.3 $\pm$ 8.1	92.0 $\pm$ 1.1
Dieldrin	87.6 $\pm$ 1.7	77.5 $\pm$ 1.6	113.6 $\pm$ 2.4
Endrin	86.1 $\pm$ 2.9	91.4 $\pm$ 2.9	100.0 $\pm$ 2.9
Chlorobenzilate	100.0 $\pm$ 3.6	99.4 $\pm$ 5.7	109.3 $\pm$ 0.9
<i>p,p'</i> -DDD	90.9 $\pm$ 3.4	94.0 $\pm$ 5.1	103.1 $\pm$ 0.9
<i>p,p'</i> -DDT	80.3 $\pm$ 2.6	94.1 $\pm$ 3.3	95.2 $\pm$ 4.5
Captafol	—	39.1 $\pm$ 8.7	49.2 $\pm$ 12.7
Dicofol	94.0 $\pm$ 2.1	100.3 $\pm$ 7.0	102.8 $\pm$ 1.3

ち、試料抽出液（オレンジ、きゅうり、キャベツ、いんげん及びにんじんの混合液）1 ml を SAX, PSA 及び NH<sub>2</sub> ミニカラム各 100 mg に負荷し、*n*-ヘキサン-アセトン (1:1) 混液 3 ml で溶出した後、濃縮し *n*-ヘキサン-アセトン (4:1) 混液で 1 ml としたものを GC/MS で分析した。その結果を Fig. 2 に示した。未精製のもの及び SAX を通過させたものに、パルミチン酸 (C16:0) 及びリノール酸 (C18:2) のピークが認められた。4 級アミン (SAX) には色素の除去効果が、NH<sub>2</sub> には糖の除去効果があることが報告されている<sup>11)</sup>。今回の実験で PSA 及び NH<sub>2</sub> により高級脂肪酸が除去できること、また、ミニカラム及びミニカラム溶出液の色から判断するとクロロフィルが除去できることが明らかになった。しかし、SAX を通過させたものは色素が除去できておら

ず、クロマトグラム上もほとんど精製効果は認められなかった。

次に、PSA 及び NH<sub>2</sub> ミニカラム 100 mg に農薬各 1  $\mu$ g を負荷し、回収率を検討した。大部分の農薬はこれらの充てん剤に吸着することなく、良好に回収された。Table 2 に回収率が 80% 以下の農薬のみを示した。キノメチオネートはいずれの充てん剤からの回収率も低く、本法の適用が困難であった。また、分子構造に酸アミド結合を有するアセフェート、トリクラミドは溶出が遅れる傾向があった。特に NH<sub>2</sub> を用いた場合、トリクラミドの回収率が低かったため、PSA を用いた精製法を採用することにした。なお、PSA ミニカラムは充てん量 100 mg と 500 mg のものが市販されているが、100 mg では、穀類、バナナ、ほうれんそうなどで脂肪

**Table 7.** Recoveries of Pyrethroid Pesticides Added to Agricultural Products

Pyrethroid pesticide	Recovery (% , mean $\pm$ SD, $n=3$ )		
	Brown rice	Lemon	Spinach
Pyrethrins	127.0 $\pm$ 9.3	127.2 $\pm$ 9.4	150.1 $\pm$ 2.5
Cyhalothrin	97.1 $\pm$ 3.8	109.0 $\pm$ 3.4	123.6 $\pm$ 3.2
Permethrin	120.4 $\pm$ 7.0	103.5 $\pm$ 2.7	119.9 $\pm$ 6.9
Cyfluthrin	97.4 $\pm$ 5.2	121.8 $\pm$ 5.9	134.3 $\pm$ 6.4
Cypermethrin	85.0 $\pm$ 3.8	126.9 $\pm$ 8.3	124.4 $\pm$ 2.4
Flucythrinate	109.0 $\pm$ 5.1	119.7 $\pm$ 9.4	124.3 $\pm$ 3.9
Fenvalerate	89.3 $\pm$ 3.5	108.3 $\pm$ 3.3	115.5 $\pm$ 2.3
Fluvalinate	82.1 $\pm$ 7.8	136.0 $\pm$ 3.4	128.5 $\pm$ 6.2
Deltamethrin + Tralomethrin	88.6 $\pm$ 4.0	116.7 $\pm$ 3.8	114.9 $\pm$ 3.1

**Table 8.** Recoveries of Pesticides Added to Agricultural Products

Pesticide	Recovery (% , mean $\pm$ SD, $n=3$ )		
	Brown rice	Lemon	Spinach
Diphenyl	106.7 $\pm$ 22.9	131.7 $\pm$ 9.3	112.0 $\pm$ 10.5
<i>o</i> -Phenylphenol	96.2 $\pm$ 5.6	96.1 $\pm$ 5.2	94.7 $\pm$ 3.4
Dimethipin	85.7 $\pm$ 1.5	91.1 $\pm$ 7.0	105.1 $\pm$ 2.2
Methoprene	95.5 $\pm$ 7.0	110.8 $\pm$ 6.0	100.8 $\pm$ 7.0
Isoprothiolane	98.4 $\pm$ 1.1	98.1 $\pm$ 3.7	104.5 $\pm$ 1.9

**Table 9.** Pesticide Residues in Agricultural Products

Pesticide	Number <sup>1)</sup>	Range (ppm)	Sample
Imazalil	21	0.11~4.00	Orange, Grapefruit, Lemon, Banana
Thiabendazol	20	0.87~2.94	Orange, Grapefruit, Lemon
<i>o</i> -Phenylphenol	8	0.06~0.63	Orange, Grapefruit, Lemon
Chlorpyrifos	13	0.01~0.23	Orange, Lemon, Banana
Bitertanol	7	0.07~0.35	Banana
Dicofol	5	0.02~0.35	Orange, Strawberry, "Unshu" mandarin, etc.
Carbaryl	4	0.02~2.35	Strawberry, Grapefruit, Japanese pear
Acephate	6	0.03~0.80	Carrot, Sweet pepper, Pumpkin, etc.
Metamidophos	4	0.03~0.10	Carrot, Sweet pepper, Pumpkin, etc.
Prothiofos	4	0.01~0.24	Apple, Lettuce, Tomato
Fenitrothion	4	0.01~0.02	Japanese persimmon, Tea, Rice, etc.
Iprodione	4	0.01~0.16	Grape, Japanese pear, Sweet pepper
Cypermethrin	3	0.01~0.02	Japanese persimmon, Welsh onion
Fenvalerate	3	0.01~0.20	Japanese radish, Broccoli, etc.

<sup>1)</sup> Number of positive among 157 samples.

酸の除去が不完全になる場合があった。脂肪酸はGC/MSにおいてSCAN領域のほとんどすべてのイオンに相当の強度を持ったため、その存在はわずかであっても、微量の農薬ピークの検出に障害をもたらす。よって、広範囲の農産物への適用性と脂肪酸除去の確実性を考慮して、充てん量500mgのPSAを用いた精製法をScheme 1に示した。

### 3. 添加回収実験

108種農薬を、米、レモン及びほうれんそうに0.1

ppm添加し、Scheme 1に従って分析したときの回収率をTable 3~8に示した。なお、デルタメトリンとトラロメトリンは同一ピークとして検出されるため、合計値として求めた。農産物の種類により回収率が低下した6農薬及びキノメチオネートを除く101種農薬の回収率は50%以上であった。

Table 3の有機リン系農薬では、極性の高いメタミドホス、アセフェートの回収率が52~81%と若干低いものの、スクリーニングは十分可能であった。ジクロロポ

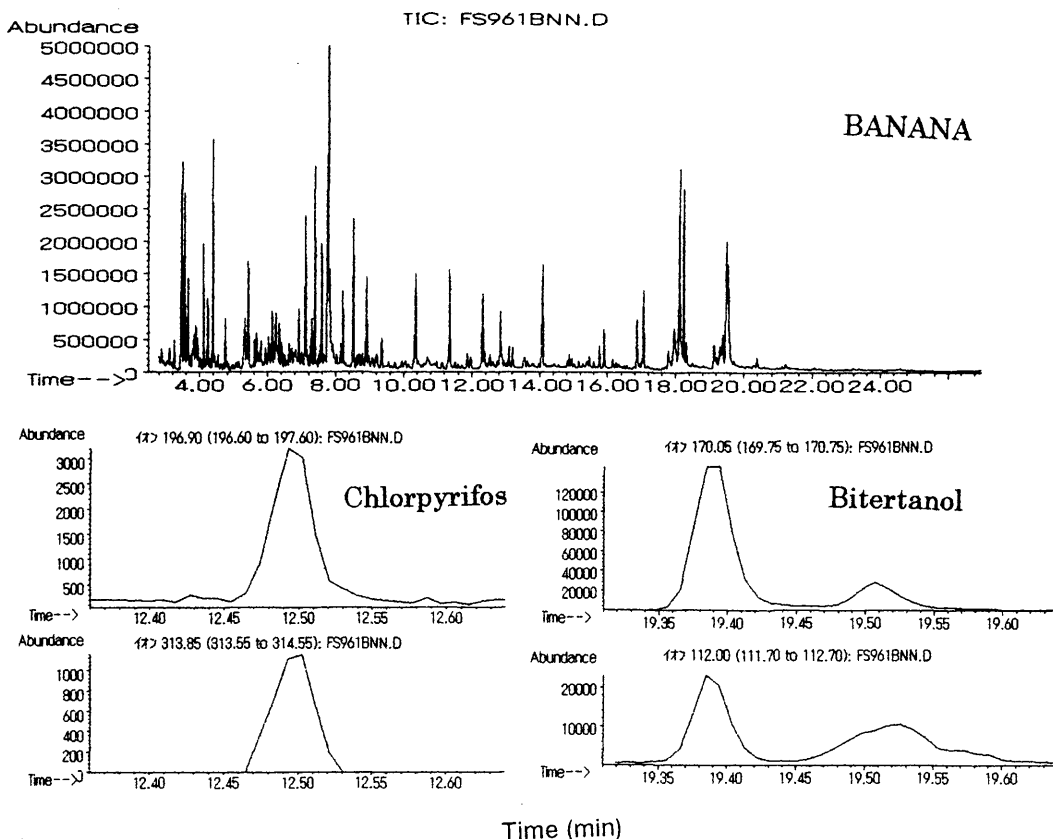


Fig. 3. Total-ion and single-ion chromatograms for banana extract by GC/MS (SCAN mode)

ス揮発性が高いため、濃縮操作時に損失が起り、チオメトンはほうれんそう中でスルホキシド、スルホン体への酸化が促進されていると思われる。Table 4 の含窒素系農薬では、キノメチオネートは前述のようにPSAミニカラムによる精製の段階で消失するため回収率が低く、一斉分析から除外した。また、ジクロフルアニドは操作中に  $N',N'$ -ジメチル- $N$ -フェニルスルホニルジアミドに分解されやすく<sup>15)</sup>、回収率は35~52%にとどまった。なお、TIC上では、マススペクトルより  $N',N'$ -ジメチル- $N$ -フェニルスルホニルジアミドと推定されるピークの増加が認められた。エトキシキンは反応性が高く、標準溶液を放置すると、保持時間の長いピークが複数検出された。米、レモンでエトキシキンの回収率が低下しているのは、共存成分と反応しているためと思われる。プロバモカルブ、チアベンダゾール及びイマザリルは、塩基性で溶媒抽出される物質であるが、酸性の強いレモンの場合、酢酸ナトリウムを添加しpH 6付近で塩析することにより、チアベンダゾール及びイマザリルは70%台の回収率が得られた。しかし、プロバモカルブの回収率は31%と低かった。Table 5 の  $N$ -メチル

カーバメイト系農薬では、オキサミルの感度が低く、また、特徴的なフラグメントイオンが98及び72と低質量であるため、妨害ピークが多く検出が困難であり、回収率は低く、ばらつきが大きくなった。エチオフェンカルブはほうれんそう中で、チオメトン同様に、スルホキシド、スルホン体への酸化の促進が考えられる。なお、 $N$ -メチルカーバメイト系農薬については、本分析法で得られた試験溶液を溶媒置換した後、ポストカラム誘導体化HPLCで分析することにより、正確な定量が可能になると思われる。Table 6 の有機塩素系農薬では、カプタホールの回収率が39~49%と低く、操作中の分解が予想される。なお、カプタホールのフラグメントイオンのうち、強度の大きいものは79のみで、低質量であり妨害ピークのため、米では検出不能であった。Table 7, 8 に示したピレスロイド系農薬及びその他の農薬では、ほぼ良好な回収率が得られた。

#### 4. 実態調査

本法を用いて平成7年度に実施した157検体の農産物中69検体に、34種農薬が検出限界0.01 ppm以上残留していた。複数の農薬が検出されたのは44検体で、

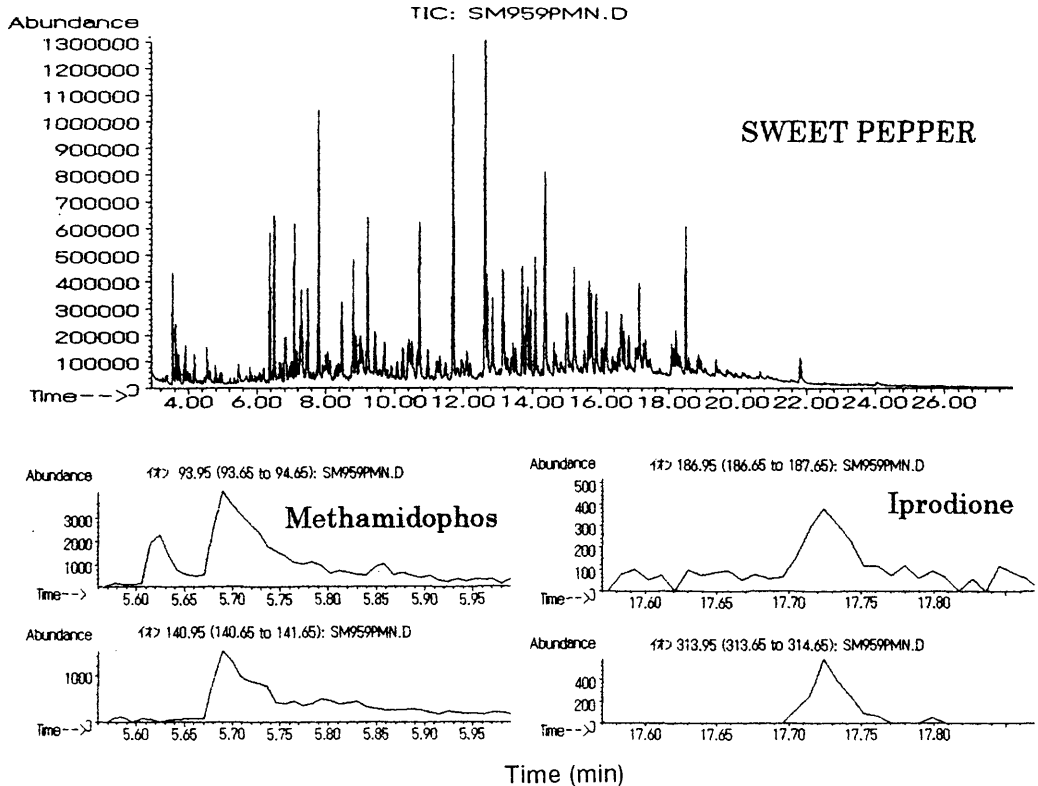


Fig. 4. Total-ion and single-ion chromatograms for sweet pepper extract by GC/MS (SCAN mode)

そのうち 27 検体は輸入果実であった。3 検体以上から検出された農薬の検出例を Table 9 に示した。輸入かんきつ類 20 検体からは、イマザリル、チアベンダゾール、オルトフェニルフェノール及びクロルピリホス等が組み合わさって検出された。また、バナナ（輸入）からは、ピテルタノールとクロルピリホスの検出頻度が高く、両者ともに検出されたのは 4 検体であった。その他、パイナップルからはトリアジメノールとトリアジメホンが、いちご（輸入）からはカルバリルとジコホールが検出された。

アセフェートとメタミドホスは、にんじん、ピーマン、かぼちゃ及びほうれんそうで同時に検出された。また、イプロジオンが検出されたぶどう、日本なしなどでは、イプロジオン代謝物も痕跡程度検出された。その他、有機リン系農薬ではフェニトロチオンとプロチオホス、ピレスロイド系農薬ではシベルメトリンとフェンバレートの検出例が多かった。輸入野菜ではかぼちゃ、ブロッコリーから、国産野菜ではにんじん、ピーマン、ねぎなどから、国産果実では日本なし、りんご、かきなどから検出された。なお、食品衛生法の規格基準を超えた検出例はみられなかった。

Fig. 3, 4 に実試料のバナナ及びピーマンのクロマト

グラムを示した。保持時間近辺での 2 種類のイオンクロマトグラムから、ピテルタノールの 2 種の異性体のピーク (Fig. 3) などが確認でき、特定の農薬の存在を明らかにすることができた。

#### 結 語

1. ODS 及び PSA の 2 種類の SPE 用ミニカラムを用いた精製法により、GC/MS で妨害ピークとなりながら脂肪酸などを除去することができた。
2. 農産物の種類によって 50% 以下の回収率を示した農薬が 6 種存在したが、アセフェート、メタミドホスなど高極性物質を含む 107 種農薬（うち規制対象 84 種）のスクリーニング分析が可能になった。
3. 本分析法により、157 検体の農産物について実態調査を行った結果、69 検体に 34 種農薬が検出限界 0.01 ppm 以上残留していたが、食品衛生法の規格基準を超えるものはなかった。

#### 文 献

- 1) 厚生省告示：第 161 号，平成 7 年 8 月 14 日 (1995)。
- 2) 秋山由美，辻 正彦，松本美穂，三橋隆夫，武田信幸，足立一彦：兵庫衛研報。30, 30~34 (1995)。
- 3) Obana, H., Hori, S., Okihashi, M., Nishimune, T.: Jpn. J. Food Chem. 1, 2~8 (1994)。

- 4) Sannino, A., Mambriani, P., Bandini, M., Bolzoni, L.: J. AOAC. Int. **78**, 1,502~1,512 (1995).
- 5) Lehotay, S. J., Eller, K. I.: *ibid.* **78**, 821~830 (1995).
- 6) Lehotay, S. J., Aharonson, N., Pfeil, E., Ibrahim, M. A.: *ibid.* **78**, 831~840 (1995).
- 7) Nakamura, Y., Tonogai, Y., Sekiguchi, Y., Tsumura, Y., Nishida, N., Takakura, K., Isechi, M., Yuasa, K., Nakamura, M., Kifune, N., Yamamoto, K., Terasawa, S., Oshima, T., Miyata, M., Kamakura, K., Ito, Y.: J. Agric. Food Chem. **42**, 2,508~2,518 (1994).
- 8) 残留農薬簡易分析法開発検討委員会: 食品衛生研究 **45**(9), 31~49 (1995).
- 9) Fillion, J., Hindle, R., Lacroix, M., Selwyn, J.: J. AOAC. Int. **78**, 1,252~1,266 (1995).
- 10) Lee, S. M., Papathakis, M. L., Feng, H. C., Hunter, G. F., Carr, J. E.: Fresenius J. Anal. Chem. **339**, 376~383 (1991).
- 11) Cairns, T., Luke, M. A., Chiu, K. S., Navarro, D., Siegmund, E. G.: Rapid Commun. Mass Spectrom. **7**, 1,070~1,076 (1993).
- 12) Grob Jr, K.: J. Chromatogr. **324**, 241~259 (1985).
- 13) 厚生省生活衛生局食品化学課長通知: “食品, 添加物等の規格基準の一部改正について” 平成7年8月14日, 衛化第94号 (1995).
- 14) 厚生省生活衛生局監修: “食品衛生検査指針 (食品中の食品添加物分析法)” p. 97~102 (1989) 日本食品衛生協会.
- 15) 農薬残留分析法研究班編集: “最新農薬の残留分析法” p. 196~198 (1995) 中央法規出版.