

## 4種農薬キントゼン,トリフルラリン,イソプロチオラン,ブタクロールの告示試験法への適用性と改良法に関する検討

誌名	食品衛生学雑誌
ISSN	00156426
著者	中村, 優美子 吉井, 公彦 津村, ゆかり
巻/号	39巻1号
掲載ページ	p. 51-59
発行年月	1998年2月

## 調査・資料

4種農薬キントゼン, トリフルラリン, イソプロチオラン,  
ブタクロールの告示試験法への適用性と改良法に関する検討

(平成9年7月4日受理)

中村優美子\* 吉井公彦\* 津村ゆかり\*  
外海泰秀\* 柴田 正\*Application and Improvement of the Bulletin Method on the Analysis of Quintozene,  
Triflurarin, Isoprothiolane and ButachlorYumiko NAKAMURA, Kimihiko YOSHII, Yukari TSUMURA, Yasuhide TONOGAI  
and Tadashi SHIBATA(National Institute of Health Sciences, Osaka Branch: 1-1-43, Hoenzaka,  
Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan)**Key words:** ガスクロマトグラフィー (ECD) GC-ECD; キントゼン quintozene; トリフルラリン triflurarin; イソプロチオラン isoprothiolane; ブタクロール butachlor; 告示試験法 bulletin method

## 緒 言

我が国では平成9年3月1日現在, 138種農薬130種作物について食品衛生法により農薬の残留基準が定められている。

キントゼン, イソプロチオラン, トリフルラリン, ブタクロールの4種農薬は, 我が国では比較的良好に用いられている農薬でありながらその残留基準はまだなく, 近い将来に残留基準並びに告示試験法が定められるものと見込まれる。複数の有機塩素系農薬を同時分析する告示試験法としては, 「BHC, DDT, アルドリン, エンドリン, ジコホール, ディルドリン, テフルトリン及びハルフェンブロックス試験法」(平成8年9月2日厚生省告示)がある。上記のGC-ECDで分析可能な4種農薬を分析するに当たって, 本告示試験法<sup>1)</sup>を適用できれば, 同時に多種類の農薬が分析できることになり省力化の上でも有利である。

したがって, 上記4種農薬の分析に告示試験法<sup>1)</sup>「BHC, DDT, アルドリン, エンドリン, ジコホール, ディルドリン, テフルトリン及びハルフェンブロックス試験法」が適用できるか否かを, 11種農作物(玄米, 大豆, ばれいしょ, きゅうり, キャベツ, レタス, にん

じん, なす, たまねぎ, りんご, 茶)について調べた。また, 同試験法が適用できない農薬についてはその原因を検討し, 代替法を作成した。

上記4種農薬の化学構造式を Fig. 1 に示す。

## 実験方法

## 1. 試薬及び装置

## 1.1 農薬標準品

キントゼン(純度99.0%以上), イソプロチオラン(純度99.0%以上), トリフルラリン(純度98.0%以上)及びブタクロール(純度99.0%以上)はいずれも和光純薬工業(株)より購入した。

## 1.2 農薬標準原液及び農薬標準混液

上記の4種農薬標準品をそれぞれ酢酸エチルに溶解し, 1,000 µg/mLの農薬標準原液を調製した。

農薬標準原液を必要に応じてアセトン又は*n*-ヘキサンに溶解し, 1 mL中にキントゼン1 µg, トリフルラリン2 µg, イソプロチオラン及びブタクロール各4 µgを含む農薬標準混液を調製した。

## 1.3 試薬

アセトン, *n*-ヘキサン, アセトニトリル, ジエチルエーテル, 酢酸エチルは, 残留農薬試験用を用いた。

ケイソウ土 Celite 545 は和光純薬工業(株)より購入した。塩化ナトリウムは試薬特級品を用いた。

無水硫酸ナトリウム(試薬特級), カラムクロマトグ

\* 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所: 〒540-0006 大阪市中央区法円坂1-1-43

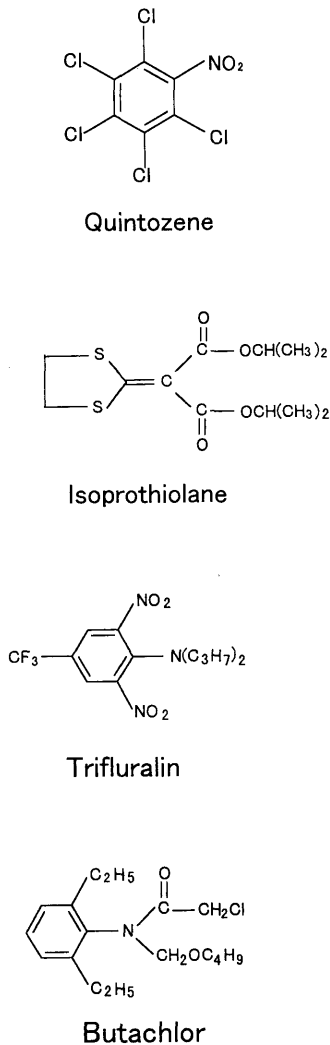


Fig. 1. Chemical structures of 4 pesticides

ラフィー用合成ケイ酸マグネシウム Florisil PR (60~100 mesh, 和光純薬工業(株))及びカラムクロマトグラフィー用無水ケイ酸 Kieselgel 60 (0.063~0.100 mm, Merck 社)は、130°Cで1夜乾燥した後デシケーターで放冷したものを用いた。

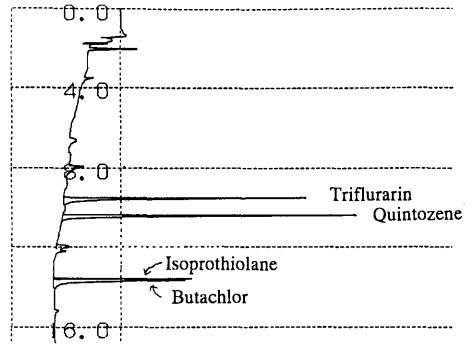
フロリジルカートリッジ Sep-Pak plus Florisil (910 mg)及びシリカカートリッジ Sep-Pak plus Silica (690 mg)は、Waters 社より購入した。

水は、再蒸留イオン交換水を使用した。

#### 1.4 機器

ガスクロマトグラフは、(株)島津製作所製 GC-17A (電子捕獲型検出器, オートインジェクター AOC-17, クロマトパック C-R4A 付き)を用いた。ロータリーエバポレーターは RE111 (柴田科学機械工業(株))を用いた。

#### Four Pesticides



#### Thirteen Organochlorine Pesticides

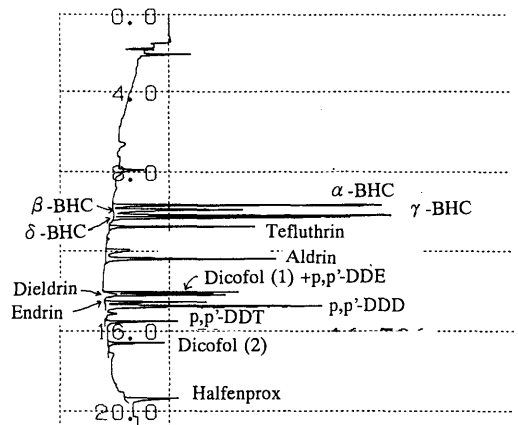


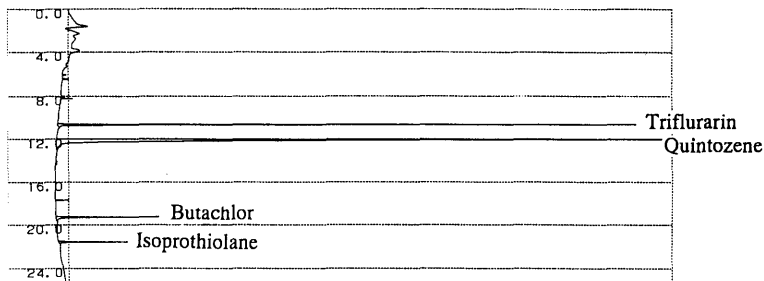
Fig. 2. Gas chromatograms of pesticides (condition #1)

Concentration of each pesticide is 0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for quintozene,  $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC,  $\delta$ -BHC,  $p,p'$ -DDD,  $p,p'$ -DDE,  $p,p'$ -DDT, aldrin, endrin, dieldrin and tefluthrin, 0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for trifluralin and  $p,p'$ -DDD, and 0.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for butachlor, isoprothiolane, dicofol and halfenprox. Conditions of GC-ECD are as follows: column, DB-1; carrier gas, He; detector, ECD; column temperature, 50°C $\rightarrow$ 25°C/min $\rightarrow$ 175°C $\rightarrow$ 10°C/min $\rightarrow$ 300°C; injection port temperature, 230°C; detector temperature, 300°C; injection method, splitless; injection volume, 1  $\mu\text{L}$ .

カラムクロマトグラフィー用ガラスカラムは、内径 15 mm, 長さ 300 mm のものを用いた。

GLC用キャピラリーカラム DB-1 (dimethylpolysiloxane, 0.25 mm i.d.  $\times$  30 m, 膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ )及び DB-1701 ((14% cyanopropylphenyl)-methylpolysiloxane, 0.25 mm i.d.  $\times$  30 m, 膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ )は、J&

### Four Pesticides



### Thirteen Organochlorine Pesticides

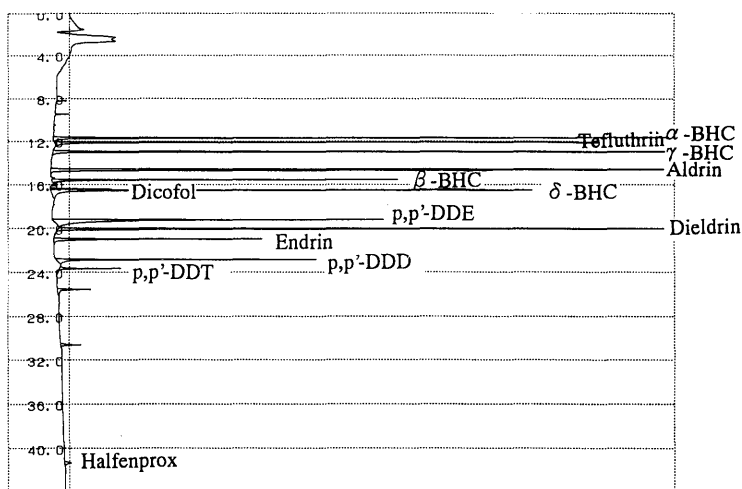


Fig. 3. Gas chromatograms of pesticides (condition #2)

Concentration of each pesticide is  $0.1 \mu\text{g/mL}$  for  $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC,  $\delta$ -BHC,  $p,p'$ -DDE,  $p,p'$ -DDT, aldrin, endrin, dieldrin and tefluthrin,  $0.2 \mu\text{g/mL}$  for  $p,p'$ -DDD, and  $0.4 \mu\text{g/mL}$  for dicofol and halfenprox. Conditions of GC-ECD are as follows: column, DB-1701; carrier gas, He; detector, ECD; column temperature,  $80^\circ\text{C} \rightarrow 30^\circ\text{C}/\text{min} \rightarrow 190^\circ\text{C} \rightarrow 3.6^\circ\text{C}/\text{min} \rightarrow 250^\circ\text{C}$ ; injection port temperature,  $230^\circ\text{C}$ ; detector temperature,  $300^\circ\text{C}$ ; injection method, splitless; injection volume,  $1 \mu\text{L}$ .

W Scientific 社製のものを用いた。

#### 1.5 試料

大阪府下の小売店で玄米、大豆、ばれいしょ、きゅうり、キャベツ、レタス、にんじん、なす、たまねぎ、りんご、茶（煎茶）を購入し、試料とした。

#### 2. 農薬分析法（告示試験法<sup>1)</sup>）

告示試験法<sup>1)</sup>に従い、抽出、精製操作を行った。農薬定量のための GC 条件は以下のとおりである。

##### [条件 1]

カラム: DB-1; キャリヤーガス: He; 検出器: ECD; カラム温度:  $50^\circ\text{C}$  (1分)  $\rightarrow 25^\circ\text{C}/\text{分} \rightarrow 175^\circ\text{C} \rightarrow 10^\circ\text{C}/\text{分} \rightarrow 300^\circ\text{C}$  (5分); 注入口温度:  $230^\circ\text{C}$ ; 検出器温度:

$300^\circ\text{C}$ ; 感度: range 1, current 0.5 nA, attenuation 7; 注入方法: スプリットレス; 注入量:  $1 \mu\text{L}$ 。

##### [条件 2]

カラム: DB-1701; キャリヤーガス: He; 検出器: ECD; カラム温度:  $80^\circ\text{C}$  (2分)  $\rightarrow 30^\circ\text{C}/\text{分} \rightarrow 190^\circ\text{C} \rightarrow 3.6^\circ\text{C}/\text{分} \rightarrow 250^\circ\text{C}$  (8分); 注入口温度:  $230^\circ\text{C}$ ; 検出器温度:  $300^\circ\text{C}$ ; 感度: range 1, current 0.5 nA, attenuation 7; 注入方法: スプリットレス; 注入量:  $1 \mu\text{L}$ 。

#### 3. 農薬分析法（改良法）

抽出は告示法<sup>1)</sup>に従い、精製は告示法のフロリジルカラムの代わりにフロリジールカートリッジを用いた。

すなわち、あらかじめエーテル及び  $n$ -ヘキサン

Table 1. Recoveries of 4 Pesticides (by the Bulletin Method)

Pesticides	Fortified level ( $\mu\text{g/g}$ )	Recovery (%) <sup>1)</sup>					
		Brown rice	Soybean	Potato	Cucumber	Cabbage	Lettuce
Quintozene	0.05	81.7 $\pm$ 7.7*	62.7 $\pm$ 1.1*	— <sup>#</sup>	75.2 $\pm$ 2.5	89.1 $\pm$ 3.9	91.9 $\pm$ 2.8
Triflurarin	0.1	84.1 $\pm$ 7.7*	68.0 $\pm$ 0.9*	84.7 $\pm$ 7.5	79.0 $\pm$ 1.8	87.4 $\pm$ 4.4	94.2 $\pm$ 1.5
Isoprothiolane	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Butachlor	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Pesticides	Fortified level ( $\mu\text{g/g}$ )	Recovery (%) <sup>1)</sup>			
		Carrot	Eggplant	Onion	Apple
Quintozene	0.05	79.2 $\pm$ 1.1	77.3 $\pm$ 2.9	82.9 $\pm$ 12.7*	77.8 $\pm$ 6.0
Triflurarin	0.1	83.0 $\pm$ 1.3	78.9 $\pm$ 2.1	83.8 $\pm$ 12.2*	78.5 $\pm$ 3.5
Isoprothiolane	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0
Butachlor	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0

Pesticides	Fortified level (ppm)	Recovery (%) <sup>1)</sup>
		Green tea
Quintozene	0.17	80.8 $\pm$ 9.6
Triflurarin	0.33	63.7 $\pm$ 9.5
Isoprothiolane	0.67	0.0
Butachlor	0.67	0.0

<sup>1)</sup> Data are the means $\pm$ SD for 3 experiments.

\* There is an interferential peak near the pesticide.

<sup>#</sup> Determination was impossible because of the interferential peak.

液 (3:17) 10 mL で洗浄したカートリッジに試料抽出液 2 mL を負荷し, ①エーテル及び *n*-ヘキサンの混液 (3:17) 10 mL, ②酢酸エチル及び *n*-ヘキサンの混液 (2:8) 10 mL の順で溶出した。各画分の溶出液を減圧乾固し, *n*-ヘキサン 2 mL に溶解し, 試験溶液とした。各画分について農薬の定量を行った。

農薬定量のための GC 条件は 2. に示したとおりである。

#### 4. 添加回収試験

玄米, 大豆, ばれいしょ, きゅうり, キャベツ, レタス, にんじん, なす, たまねぎ, りんごの 10 種農産物について, 農薬標準混液 (アセトン溶液) を 0.5 mL (玄米及び大豆の場合) あるいは 1.0 mL (その他の場合) をそれぞれ添加し, 上記の方法で添加回収試験を行った (キントゼン 0.05  $\mu\text{g/g}$ , トリフルラリン 0.1  $\mu\text{g/g}$ , イソプロチオラン及びブタクロール各 0.2  $\mu\text{g/g}$  添加に相当)。茶の場合は, 茶葉 9 g を 540 mL の沸騰水で 5 分間浸出したろ液 360 mL に農薬標準混液 (アセトン溶液) を 1.0 mL 添加した (キントゼン 0.17  $\mu\text{g/g}$ , トリフルラリン 0.33  $\mu\text{g/g}$ , イソプロチオラン及びブタクロール各 0.67  $\mu\text{g/g}$  添加に相当)。

分析操作は, 農薬標準混液 (アセトン溶液) を添加して 30 分後に開始した。

#### 結果及び考察

##### 1. GC-ECD 条件の検討

告示試験法記載の条件 1 及び条件 2 による 4 種農薬並びに 13 種有機塩素系農薬 ( $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC,  $\delta$ -BHC, *p,p'*-DDD, *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDT, アルドリン, ディルドリン, エンドリン, ジコホール, テフルトリン, ハルフェンブロックス) のガスクロマトグラムをそれぞれ Fig. 2 及び Fig. 3 に示す。

条件 1 では, ジコホールが分解するためか 2 本のピークが観察され, そのうちの 1 本が *p,p'*-DDE のピークと重なった。ブタクロールとイソプロチオラン,  $\gamma$ -BHC と  $\delta$ -BHC,  $\delta$ -BHC とキントゼンとの分離が不十分であったが, 他の農薬については分別定量することが可能であった (Fig. 2)。一方, 条件 2 ではキントゼンとテフルトリン, ジコホールと  $\delta$ -BHC, *p,p'*-DDE とブタクロールとの分離は不十分であったが, 他の農薬については分別定量することが可能であった (Fig. 3)。

すなわち, 条件 1, 条件 2 のいずれにおいても分析対象の 4 種農薬と告示試験法に示された 13 種農薬を含む 17 種農薬の完全な分離定量は不可能であったが, 両条件を組み合わせるにより分別定量は可能になると考えられた。また, キントゼン, イソプロチオラン, トリフルラリン, ブタクロールの 4 種農薬の分離は条件 2 の方が良好であった (Fig. 3)。したがって, 以後の 4 種

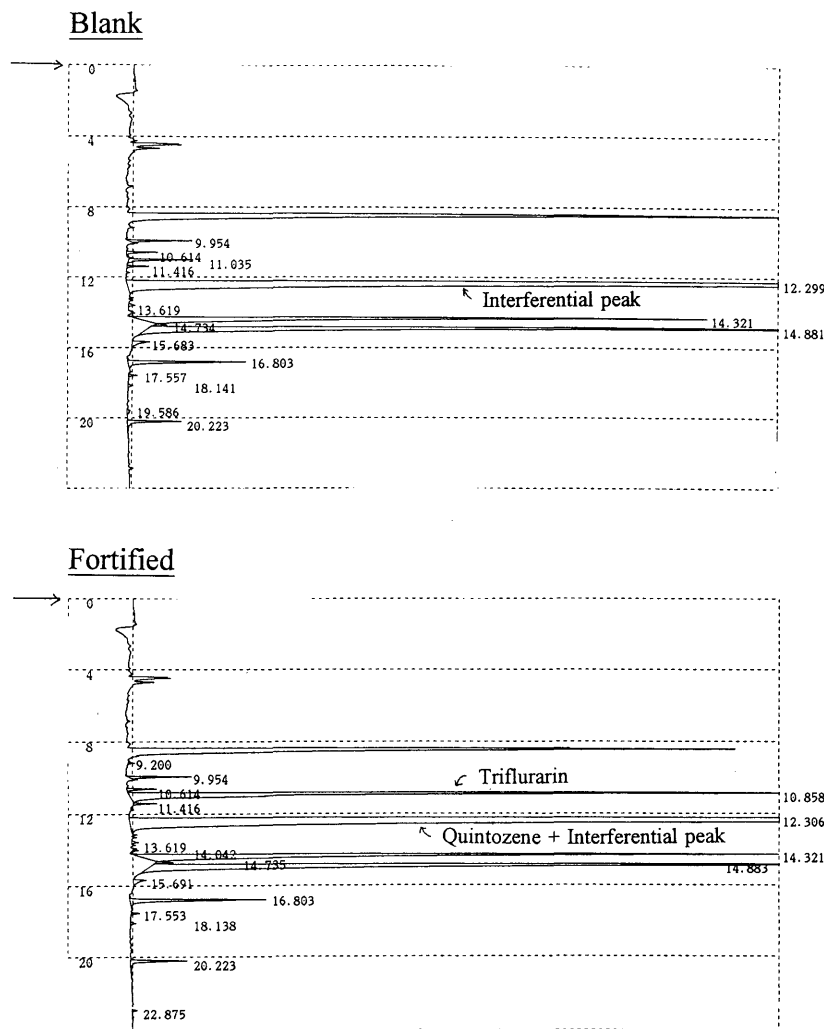


Fig. 4. Gas chromatograms of the test solution of potato (the bulletin method)  
See legend of Fig. 3 for GC-ECD conditions.

農薬の分析は条件2により行うこととした。

4種農薬の溶液としての検出限界(S/N=3)は、キントゼンは0.0001  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、イソプロチオランは0.002  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、トリフルラリンは0.0002  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、ブタクロールは0.002  $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。また、4種農薬の検量線は、キントゼン及びトリフルラリンは0.0005~0.04  $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で、イソプロチオランとトリフルラリンは0.002~0.04  $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で直線性が得られた。

## 2. 添加回収実験

代表的な11種作物についての添加回収実験の結果をTable 1に示した。またこれらのうち、ばれいしょ及び玄米の試験溶液のガスクロマトグラムをFigs 4, 5に示

した。

ばれいしょではキントゼンと保持時間がほぼ一致する大きな夾雑ピークが存在した(Fig. 4)ため、キントゼンの回収率を求めるのは事実上不可能であった。玄米及び大豆ではキントゼン、トリフルラリン及びブタクロールと保持時間のほぼ一致する微小な夾雑ピークが存在したが、定量に妨害となる程ではなかった(Fig. 5)。たまねぎではキントゼン及びトリフルラリンと保持時間のほぼ一致する微小な夾雑ピークが存在し、その他試料由来の夾雑ピークが多数存在したが、4農薬の定量に妨害となるほどではなかった。その他の農産物では、定量に妨害となるような夾雑ピークは観察されなかった。

キントゼン 0.05  $\mu\text{g}/\text{g}$  添加時の添加回収率は62.7~

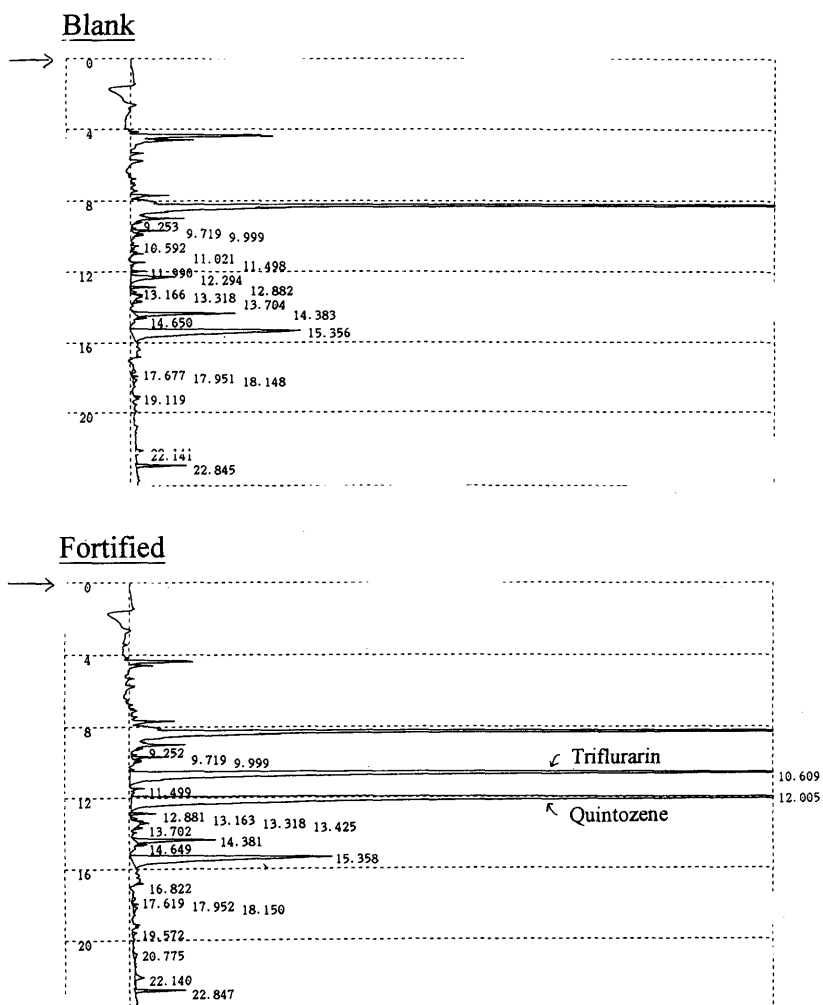


Fig. 5. Gas chromatograms of the test solution of brown rice (the bulletin method)  
See legend of Fig. 3 for GC-ECD conditions.

91.9%, トリフルラリン 0.1  $\mu\text{g/g}$  添加時の添加回収率は 63.7~94.2% であった。イソプロチオランとブタクロールは、本法ではいずれの作物についても回収されなかった (Table 1)。

以上の結果より、告示試験法<sup>1)</sup>は、上記の 11 農作物についてキントゼン及びトリフルラリンには適用できるが、イソプロチオラン及びブタクロールには適用できないことが判明した。また、ばれいしょの場合、DB-1701 カラムを用いた分析では大きな夾雑ピークのためキントゼンの分析は不可能と考えられた。

### 3. イソプロチオラン及びブタクロールの低回収率の原因

告示試験法<sup>1)</sup>がイソプロチオラン及びブタクロールには適用できないことが判明したため、上記 4 種農薬の

抽出及びカラムクロマトグラフィーに関する検討を行った。

#### 3.1 *n*-ヘキサンによる 4 種農薬の抽出効率

あらかじめ 10% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗に農薬標準液 (アセトン溶液) 1 mL (キントゼン 1  $\mu\text{g}$ , トリフルラリン 2  $\mu\text{g}$ , イソプロチオラン及びブタクロール各 4  $\mu\text{g}$ ) を添加し、*n*-ヘキサン 100 mL, 50 mL による抽出率を測定した。

*n*-ヘキサン抽出時の回収率はキントゼン 100.5%, トリフルラリン 100.7%, イソプロチオラン 99.1%, ブタクロール 100.8% であり、*n*-ヘキサンでは 4 種農薬のすべてがほぼ完全に抽出された。したがって、告示試験法でイソプロチオラン及びブタクロールの回収率の低い原因は、抽出行程ではないことが判明した。

**Table 2.** Elution Patterns of 4 Pesticides from Florisil and Silica Gel Open Columns

Pesticides	Fortified amounts ( $\mu\text{g}$ )	Recoveries of pesticides by Florisil open column (%) <sup>1)</sup>				Total
		① 15% E/H 100 mL	② 15% E/H 100 mL	③ 50% EA/H 100 mL	④ 50% EA/H 100 mL	
Quintozene	1.0	95.2 $\pm$ 2.0	0.3 $\pm$ 0.0	0.0	0.0	95.5 $\pm$ 2.0
Triflurarin	2.0	101.4 $\pm$ 0.4	0.0	0.0	0.0	101.4 $\pm$ 0.4
Isoprothiolane	4.0	0.0	0.0	45.9 $\pm$ 0.2	0.0	45.9 $\pm$ 0.2
Butachlor	4.0	0.0	0.0	100.1 $\pm$ 3.5	0.0	100.1 $\pm$ 3.5

Pesticides	Fortified amounts ( $\mu\text{g/g}$ )	Recoveries of pesticides by Silica gel open column (%) <sup>2)</sup>				Total
		① 15% E/H 100 mL	② 15% E/H 100 mL	③ 50% EA/H 100 mL	④ 50% EA/H 100 mL	
Quintozene	1.0	92.0	0.0	0.0	0.0	92.0
Triflurarin	2.0	94.9	0.0	0.0	0.0	94.9
Isoprothiolane	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Butachlor	4.0	109.9	1.0	0.0	0.0	109.9

Abbreviations: E, diethylether; H, *n*-hexane; EA, ethyl acetate

<sup>1)</sup> Florisil open column was prepared by 10 g of Florisil PR and 5 g of anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> with 15% E/H. Data are the means $\pm$ SD for 3 experiments.

<sup>2)</sup> Silica gel open column was prepared by 10 g of Kieselgel 60 and 5 g of anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> with 15% E/H. Data are of 1 experiment.

**Table 3.** Elution Patterns of 4 Pesticides from Florisil and Silica Cartridge Columns

Pesticides	Fortified amounts ( $\mu\text{g}$ )	Recoveries of pesticides by Florisil cartridge column (%)		
		① 15% E/H 10 mL	② 20% EA/H 10 mL	Total
Quintozene	1.0	97.0 $\pm$ 3.4	0.8 $\pm$ 0.5	97.8 $\pm$ 3.4
Triflurarin	2.0	97.0 $\pm$ 1.6	0.6 $\pm$ 0.4	97.7 $\pm$ 1.7
Isoprothiolane	4.0	0.0	86.8 $\pm$ 2.1	86.8 $\pm$ 2.1
Butachlor	4.0	4.8 $\pm$ 2.0	91.5 $\pm$ 2.0	96.3 $\pm$ 0.3

Pesticides	Fortified amounts ( $\mu\text{g}$ )	Recoveries of pesticides by Silica cartridge column (%)		
		① 15% E/H 10 mL	② 20% EA/H 10 mL	Total
Quintozene	1.0	98.8 $\pm$ 3.7	0.5 $\pm$ 0.1	99.3 $\pm$ 3.8
Triflurarin	2.0	93.6 $\pm$ 4.0	0.6 $\pm$ 0.1	94.1 $\pm$ 4.1
Isoprothiolane	4.0	27.5 $\pm$ 4.7	49.8 $\pm$ 3.1	77.4 $\pm$ 2.4
Butachlor	4.0	92.0 $\pm$ 5.5	4.0 $\pm$ 0.7	96.0 $\pm$ 5.8

Abbreviations: E, diethylether; H, *n*-hexane; EA, ethyl acetate

Florisil and Silica mini cartridge columns were pre-washed with 10 mL of 15% E/H before use. Data are means $\pm$ SD for 3 experiments.

### 3.2 オープンカラムでの4種農薬の溶出パターン

告示試験法のフロリジルカラム又は比較のためシリカゲルカラムに農薬標準混液 (*n*-ヘキサン溶液) 1 mL (キントゼン 1  $\mu\text{g}$ , トリフルラリン 2  $\mu\text{g}$ , イソプロチオラン及びブタクロール各 4  $\mu\text{g}$ ) を負荷し, ①エーテル及び *n*-ヘキサンの混液 (3:17) 100 mL, ②エーテル及び *n*-ヘキサンの混液 (3:17) 100 mL, ③酢酸エチル及び *n*-ヘキサンの混液 (1:1) 100 mL, ④酢酸エチル及び *n*-ヘキサンの混液 (1:1) 100 mL の順で溶出した。①～

④の各分画における4種農薬の回収率を求め, Table 2に示した。

フロリジルカラムにおいて, キントゼン及びトリフルラリンは①の画分にそれぞれ 95.2%, 101.4% 溶出し, ②以降の画分にはほとんど溶出しなかった。イソプロチオラン及びブタクロールは①②④の各画分には溶出せず, ③の画分のみそれぞれ 45.9%, 100.1% 溶出した。イソプロチオランは④の画分においても溶出されず, 残りはフロリジルカラムに吸着されたことが示唆さ

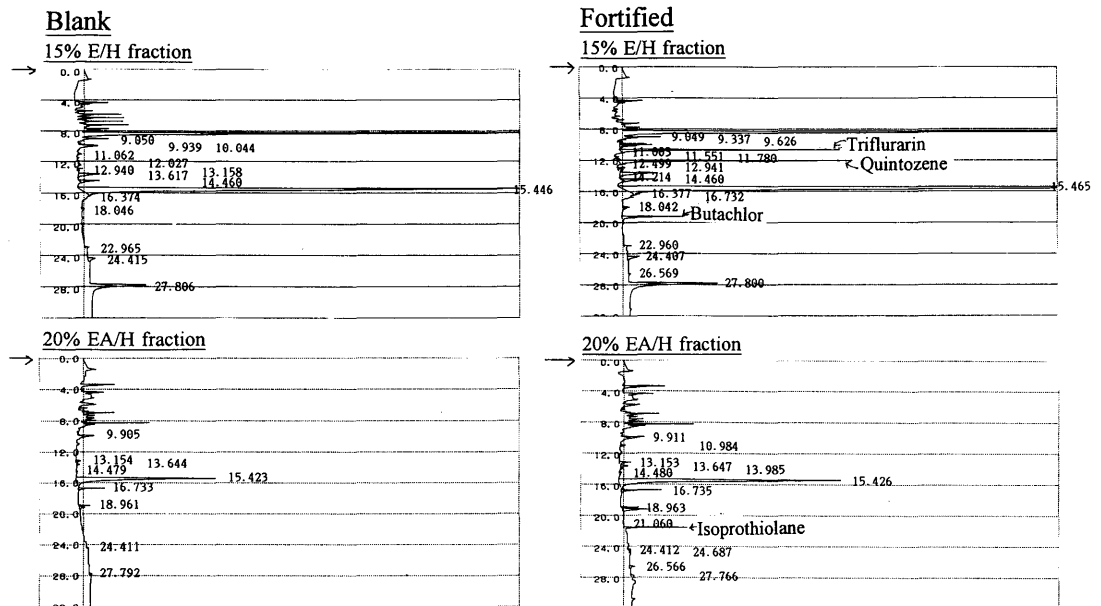


**Table 4.** Recoveries of 4 Pesticides from Brown Rice by the Improved Methods

Pesticides	Fortified level ( $\mu\text{g/g}$ )	Recovery (%)		
		15% E/H 10 mL	20% EA/H 10 mL	Total
Quintozene	0.05	81.0 $\pm$ 2.2	0.0	81.0 $\pm$ 2.2
Triflurarin	0.1	76.4 $\pm$ 2.2	0.0	76.4 $\pm$ 2.2
Isoprothiolane	0.2	1.5 $\pm$ 2.6	78.4 $\pm$ 2.8	79.9 $\pm$ 5.1
Butachlor	0.2	88.8 $\pm$ 1.5	7.9 $\pm$ 8.0	96.7 $\pm$ 9.5

Abbreviations: E, diethylether; H, *n*-hexane; EA, ethyl acetate

Data are means $\pm$ SD for 3 experiments.



**Fig. 6.** Gas chromatograms of the test solution of brown rice (the improved method)  
See legend of Fig. 3 for GC-ECD conditions.

れた。告示法では①②の画分のみを用いるので、Table 1においてブタクロールはカラムから十分溶出されていないため回収率が低かったことが明らかとなった。

一方、シリカゲルカラムではキントゼン、トリフルラリン及びブタクロールは①の画分にそれぞれ 92.0%, 94.9%, 109.9% 溶出し、②以降の画分にはほとんど溶出しなかった。イソプロチオランはいずれの画分にも全く溶出しなかった。すなわち、イソプロチオランは通常フロリジルカラムより吸着力の弱いシリカゲルカラムにより強く吸着し、溶出しなことが判明した。

また、登録保留基準法<sup>2),3)</sup>でもイソプロチオランのクリーンアップにフロリジルオープンカラムを使用しており、本実験結果から十分な回収率は得難いものと推察された。

#### 4. 4種農薬についての改良法の検討

##### 4.1 ミニカラムでの4種農薬の溶出パターン

オープンカラムではイソプロチオランが吸着され十分に溶出されないことが判明したので、次に充てん剤の少ないカートリッジでの4種農薬の溶出パターンを調べた。

フロリジルカートリッジに農薬標準混液 (*n*-ヘキサン溶液) 1 mL (キントゼン 1  $\mu\text{g}$ , トリフルラリン 2  $\mu\text{g}$ , イソプロチオラン及びブタクロール各 4  $\mu\text{g}$ ) を負荷し、①エーテル及び *n*-ヘキサンの混液 (3:17) 10 mL, ②酢酸エチル及び *n*-ヘキサンの混液 (2:8) 10 mL の順で溶出した。シリカミニカラムについてもフロリジルカートリッジと同様の操作を行い、各分画における4種農薬の回収率を求め、Table 3 に示した。

フロリジルカートリッジでは、キントゼン及びトリフルラリンは①の画分に 97% 以上が溶出した。ブタク

ロールは①の画分に 4.8%, ②の画分に 91.5% が溶出した。イソプロチオランは①の画分には全く溶出せず, ②の画分に 86.8% が溶出した。

シリカカートリッジでは, キントゼン及びトリフルラリンはフロリジルカートリッジの場合と同様①の画分に 93.6% 以上が溶出した。一方ブタクロールは①の画分に 92% が溶出した。イソプロチオランは①②の画分にそれぞれ 27.5%, 49.8% 溶出した。シリカカートリッジでイソプロチオランの回収率がやや低かったのは, イソプロチオランがシリカカートリッジ内部で一部が分解あるいは吸着を起こしているため, と考えられた。

以上のように, イソプロチオランは吸着剤に吸着されやすい性質を持つため, そのクリーンアップには吸着剤の少ないカートリッジを使用する必要があると考えられた。カートリッジ間の比較では, イソプロチオランの回収率がフロリジルカートリッジの方が良好であったため, フロリジルカートリッジを用いて改良法を検討することにした。

#### 4.2 改良法による農産物からの回収率

玄米について, 改良法により 4 種農薬の添加回収率を求め, その結果を Table 4 に示した。また, ガスクロマトグラムを Fig. 6 に示した。

玄米の場合, 告示試験法でのガスクロマトグラムに比べると, 保持時間約 15.4 分のピークなど一部の夾雑ピークの除去が不十分と考えられた (Figs. 5, 6)。しかし, 改良法においても 4 種農薬の定量に妨害となる夾雑ピークは観察されなかった (Fig. 6)。

キントゼン, トリフルラリン及びブタクロールのほとんどは第 1 画分に溶出し, イソプロチオランはほとんどが第 2 画分に溶出した。農薬の回収率は, 各画分の和で示した。

玄米での各農薬の回収率はキントゼン 81.0%, トリフルラリン 76.4%, イソプロチオラン 79.9%, ブタクロール 96.7% であった。したがって, フロリジルカートリッジを用いることにより, 4 種農薬が定量できることが示された。

なお, 告示試験法の対象農薬 13 種の分析についても, 本方法は応用可能と考えられる。ただし, 改良法では告示試験法に比べて夾雑ピークの除去能力がやや劣ると考えられるので, 注意を要する。

## ま と め

### 1. 4 種農薬の告示試験法への適用性

GC-ECD で測定可能なキントゼン, イソプロチオラン, トリフルラリン, ブタクロールについて, 告示試験法「BHC, DDT, アルドリン, エンドリン, ジコホール, ディルドリン, テフルトリン及びハルフェンブロックス試験法」(平成 8 年 9 月 2 日厚生省告示) が適用できるか否かを, 11 種農作物 (玄米, 大豆, ばれいしょ, きゅうり, キャベツ, レタス, にんじん, なす, たまねぎ, りんご, 茶) について調べた。

添加回収率について, キントゼン及びトリフルラリンはいずれの作物についても良好であったが, イソプロチオランとブタクロールは, いずれの作物についても回収されなかった。ばれいしょについては, 試料由来の大きな夾雑ピークのためキントゼンの分離定量は不可能であった。

### 2. 4 種農薬の改良分析法の作成

イソプロチオラン及びブタクロールの低回収率の原因を調べたところ, 上記 4 種農薬は *n*-ヘキサンで水層より十分に抽出されたので, 抽出行程には問題はなかった。

告示法によるフロリジルカラムではキントゼン及びトリフルラリンは定量的に回収されたが, イソプロチオラン及びブタクロールの回収は不十分であった。ブタクロールについては溶出が不十分であり, イソプロチオランについてはカラムに吸着されることが判明した。

フロリジルカラムの代わりに吸着剤の少ないフロリジルミニカラムを用いた場合, 4 種農薬とも定量的に回収され, 玄米に添加した場合についても良好な結果が得られた。

## 文 献

- 1) 「BHC, DDT, アルドリン, エンドリン, ジコホール, ディルドリン, テフルトリン及びハルフェンブロックス試験法」(平成 8 年 9 月 2 日厚生省告示)。
- 2) 農業環境保全対策研究会編: “残留農薬基準ハンドブック—作物・水質残留の分析法—” p. 70~73 (1995) 化学工業日報社。
- 3) 後藤真康, 加藤誠哉: “増補残留農薬分析法” p. 121~122 (1987) ソフトサイエンス社。