

# 農産物中のアセフェート, メタミドホス, ジクロルボス 及びトリクロルホンの分析法の検討

本村 秀章・馬場 強三・益田 宣弘

## Studies on Determination of Acephate, Methamidophos, Dichlorvos and Trichlorfon in Agricultural Products

Hideaki MOTOMURA, Tsuyomi BABA and Nobuhiro MASUDA

Key words: acephate, methamidophos, dichlorvos, trichlorfon, agricultural products

キーワード: アセフェート, メタミドホス, ジクロルボス, トリクロルホン, 農産物

### はじめに

当所では,平成5年度より農産物中の残留農薬の一斉分析法の検討を進めているが,厚生労働省では平成18年5月までにポジティブリスト制を導入することとしており,今後,益々一斉分析法の整備が重要となってくると思われる。

一方,農薬の中には分析法として一斉分析法では不向きな農薬も有り,基準違反等があった場合にも迅速に対応できるよう個別分析法の検討も重要であると思われる。そこで,今回通知法のアセフェート及びメタミドホス試験法及びジクロルボス(DDVP)及びトリクロルホン(DEP)試験法を基に,4種の農薬の試験法の検討を行ったので報告する。なお,検討に当たっては,日常的に行われている一斉分析から,迅速に個別分析法に移行できるように,GCにおける分離カラムをDB-5,クリーンアップにはグラファイトカーボンミニカラム(ENVI-Carb)を使用する等,なるべく一斉分析法の条件を採用するよう考慮した。

### 調査方法

#### 1. 試料

添加回収実験には,長崎県内で購入したばれいしょ,トマト,たまねぎ,ねぎ,ほうれん草,みかん,いちご,玄米を使用した。なお,たまねぎ,ねぎは電子レンジで前処理したものを用いた。<sup>1)</sup>

#### 2. 試薬等

標準品は市販の農薬標準品を用い,有機溶媒等の試薬は残留農薬分析用を用いた。また,DEPの誘導体化剤であるN-メチルピストリフルオロアセトアミド

(MBTFA)は和光純薬工業(株)製のガスクロマトグラフを用いた。

ミニカラム: ENVI-Carb(500mg,6mL)(スペルコ社製), Sep-pak plus silica (Waters社製)

ケイソウ土カラム: Extrelut NT20(Waters社製)

#### 3. 装置及び測定条件

ガスクロマトグラフ: (株)島津製作所 GC-17A(FPD)

ガスクロマトグラフ質量分析装置: (株)島津製作所 GC-17A+5050 A

##### 3-1. アセフェート及びメタミドホス

(GC-FPD)

カラム: DB-5(内径 0.32mm,長さ 30m,膜厚 0.25 $\mu$ m, J&W社製)

カラム温度: 80 $^{\circ}$ C(1min)-10 $^{\circ}$ C/min-180 $^{\circ}$ C-20 $^{\circ}$ C/min-280 $^{\circ}$ C(10min)

注入口温度: 250 $^{\circ}$ C 検出器温度: 285 $^{\circ}$ C

キャリアーガス: ヘリウム, 80kpa(定圧モード)

カラム: DB-210(内径 0.53mm,長さ 15m,膜厚 1.0 $\mu$ m, J&W社製)

カラム温度: 80 $^{\circ}$ C(1min)-10 $^{\circ}$ C/min-180 $^{\circ}$ C(5min)

注入口温度: 250 $^{\circ}$ C 検出器温度: 250 $^{\circ}$ C

キャリアーガス: ヘリウム, 53kpa(定圧モード)

##### 3-2. DDVP 及び DEP

(GC-FPD)

カラム: DB-5(内径 0.32mm,長さ 30m,膜厚 0.25 $\mu$ m, J&W社製)

カラム温度: 50 $^{\circ}$ C(1min)-20 $^{\circ}$ C/min-280 $^{\circ}$ C(5min)

注入口温度: 200 $^{\circ}$ C 検出器温度: 285 $^{\circ}$ C

キャリアーガス: ヘリウム, 80kpa(定圧モード)

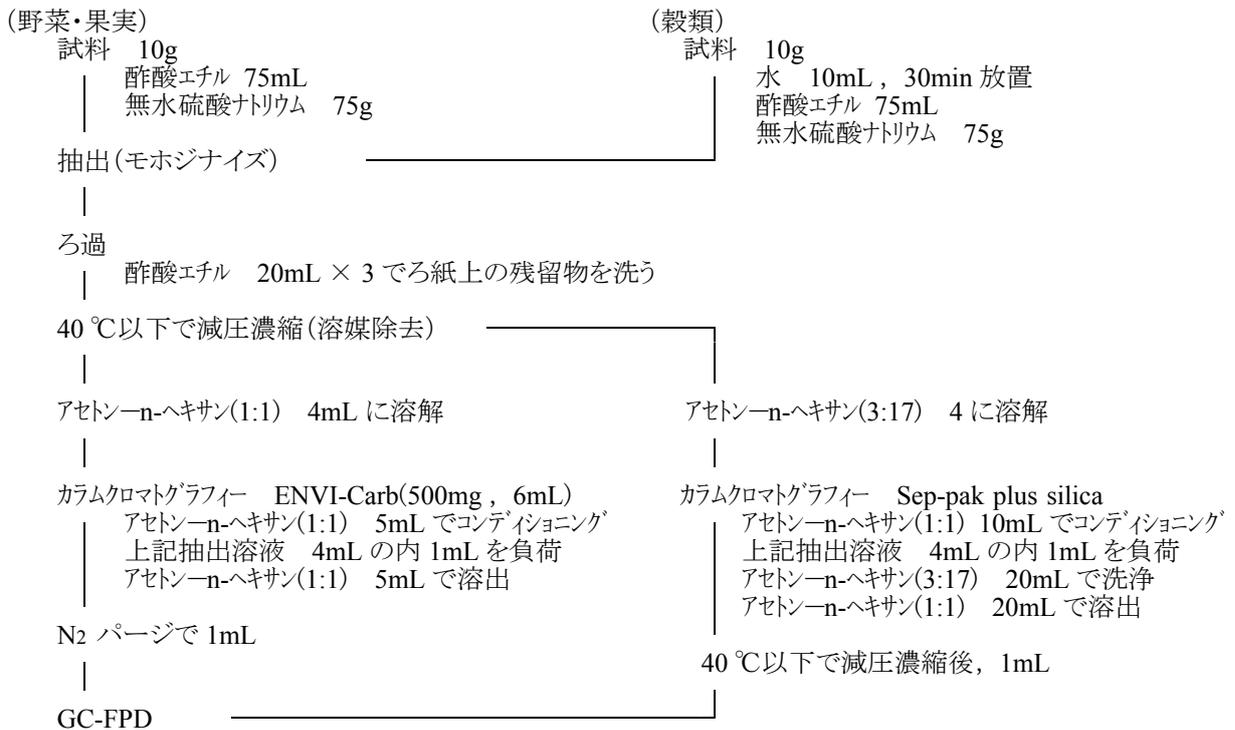


図1. アセフェート及びメタミドホスの分析方法

(GC/MS)

カラム: DB-5ms(内径 0.25mm, 長さ 30m, 膜厚 0.25 $\mu$ m, J&W 社製)  
 カラム温度: 50 $^{\circ}$ C(1min)-20 $^{\circ}$ C/min-280 $^{\circ}$ C(5min)  
 注入口温度: 250 $^{\circ}$ C 検出器温度: 250 $^{\circ}$ C  
 キャリアーガス:ヘリウム, 100kpa(定圧モード)

4. 添加回収実験

4-1. アセフェート及びメタミドホス

分析方法を図1に示した。通知法どおり、試料から無水硫酸ナトリウムで脱水しながら、酢酸エチルで抽出した。なお、通知法では試料 20g に対して、無水硫酸ナトリウム 150g, 酢酸エチル 150mL でホモジナイズしているが、当所のホモジナイザーでは負荷が大きいため、各々通知法の半量でホモジナイズを行った。精製は、野菜・果実は ENVI-Carb で、玄米は Sep-pak plus silica を使用し、GC の測定時の分離カラムは、DB-5 を用いた。また、標準溶液の添加濃度は 0.2 $\mu$ g/g とし、添加 30 分後分析を開始した。

アセフェート及びメタミドホスはマトリックスの影響を受けやすく、測定値を過大に評価する可能性がある。そのため、標準溶液は、ブランク試験液 200 $\mu$ L をとり、N<sub>2</sub> パージで乾固し、それに標準溶液(溶媒 STD)を 200 $\mu$ L 加えたものを添加回収実験用の標準溶液とした。(Matrix STD)

4-2. DDVP 及び DEP

分析方法を図2に示した。抽出と DEP の誘導体化は通知法とほぼ同様な方法を、精製は ENVI-Carb を用いた。なお、標準溶液の添加濃度は 0.1 $\mu$ g/g とし、添加 30 分後分析を開始した。

結果及び考察

1. アセフェート及びメタミドホス

当所では、試料をアセトニトリルで抽出し、抽出液に塩化ナトリウムとリン酸緩衝液を添加し、水層を除いた抽出液を、ENVI-Carb で精製を行う方法で対応していた。<sup>2)</sup> しかしながら、一部農産物によっては、回収率が低かったので検討を行った。

最初の検討段階では、アセトンで抽出後、塩化ナトリウムを添加し、Extrelut に負荷、10min 放置後、酢酸エチル 150mL で溶出し、溶出液を濃縮後、ENVI-Carb で精製を行う方法で検討を行った。<sup>3)</sup> トマトとねぎを用いて、添加回収実験を行ったところ、トマトでは両農薬とも回収率は 70%以上、ねぎではメタミドホスの回収率が 70%以上であったが、アセフェートは 62%であった。Extrelut における酢酸エチルの溶出量を 200mL で行ったが、回収率に大きな差はなかった。そこで、今回は、通知法による酢酸エチル抽出法で検討を行った。(図1)

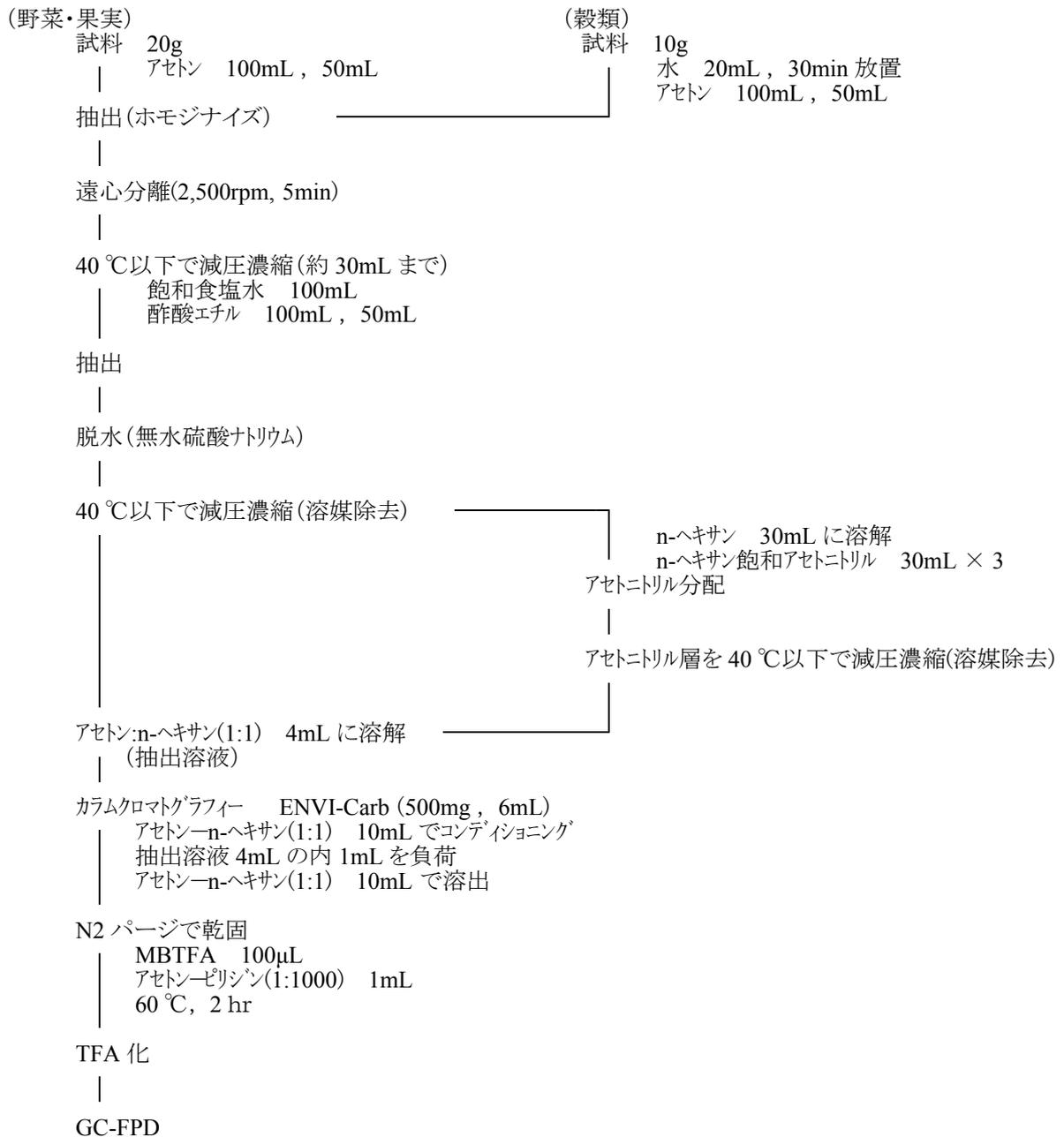


図2. DDVP及びDEPの分析方法

表1. アセフェート及びメタミドホス添加回収実験結果

農薬名	添加量 (µg/g)	ばれいしょ	回収率(n=3)(RSD), (%)				
			トマト	たまねぎ	ねぎ	みかん	玄米
アセフェート	0.2	94.2(5.5)	91.6(2.7)	88.0(5.7)	90.7(1.5)	84.3(3.0)	83.0(5.6)
メタミドホス	0.2	88.1(5.9)	86.9(3.4)	86.2(6.3)	89.2(1.3)	82.1(1.5)	82.5(7.0)

表2. Matrix STDの希釈倍率によるMatrix STD/溶媒STDの比

農薬名	原液	× 5 倍液	× 10 倍液	× 25 倍液	× 50 倍液
アセフェート	1.9	1.5	1.4	1.3	1.2
メタミドホス	1.7	1.4	1.3	1.2	1.0

表3 DDVP及びDEP添加回収実験結果

農薬名	添加量 ( $\mu\text{g/g}$ )	回収率(n=3)(RSD), (%)						
		ばれいしょ	トマト	たまねぎ	ほうれん草	みかん	いちご	玄米
DDVP	0.2	101.9(2.8)	94.9(3.7)	75.0(1.7)	101.4 (1.2)	83.7(4.9)	83.2(3.5)	88.7(5.5)
DEP	0.2	88.8(8.6)	90.4(3.5)	86.2(0.9)	92.9(0.5)	83.0(2.0)	84.8(5.0)	90.0(5.7)

図1に示す方法による添加回収実験結果を表1に示した。回収率はアセフェートで 83.0 ~ 94.2 %, メタミドホスで 82.5 ~ 89.2 %, 両農薬とも相対標準偏差 (RSD)は 7 %以下で良好な結果を得た。また, 図3にトマトによる Matrix STD での検量線を示した。0.025 ~ 1 $\mu\text{g/mL}$  の間で相関係数 0.999 以上の良好な直線性を得た。しかしながら, Matrix STD/溶媒 STD の比は, アセフェートで 1.5 ~ 2.4, メタミドホスで 1.2 ~ 1.7 で, 特にアセフェートでマトリックスの影響を大きく受けていた。みかんの Matrix STD を 5 倍 ~ 50 倍希釈した時の Matrix STD/溶媒 STD の比を求めた結果を表2に示した。希釈倍率が大きくなるに従いマトリックスの影響が小さくなっており, このことから, 測定値を求める場合は, 試験液と同じ希釈倍率の Matrix STD を使用することが必要であると思われる。また, DB-5 でみかんの試験液を測定後, カラムのみ DB-210 に交換し, 再度, みかんの試験液の測定を行った。その結果, Matrix STD/溶媒 STD の比は, DB-5 ではアセフェートで 1.9, メタミドホスで 1.7 に対して, DB-210 ではアセフェート及びメタミドホスとも 1.1 で, マトリックスの影響が小さかった。また, 回収率についても, DB-5 でアセフェートが 84.3%, メタミドホスが 82.1%に対して, DB-210 ではアセフェートが 87.7%, メタミドホスが

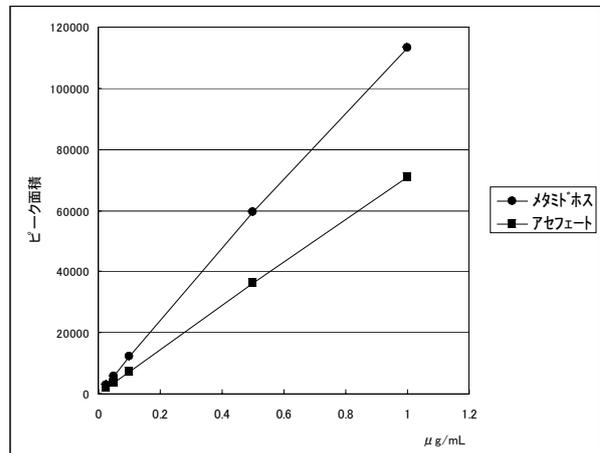


図3. トマトにおけるMatrix STDの検量線

82.6 %で, RSD も 3 %以下で良好な結果であった。

2. DDVP 及び DEP

当所では, 無水トリフルオロ酢酸(TFAA)によるアセチル化による方法で対応してきたが<sup>4),5)</sup>, 通知法が MBTFA によるアセチル化の方法であったので, 今回この方法で検討を行った。<sup>6)</sup>

転溶溶媒については, 当所の一斉分析で用いている 20%酢酸エチル-n-ヘキサンでは DEP の回収率が

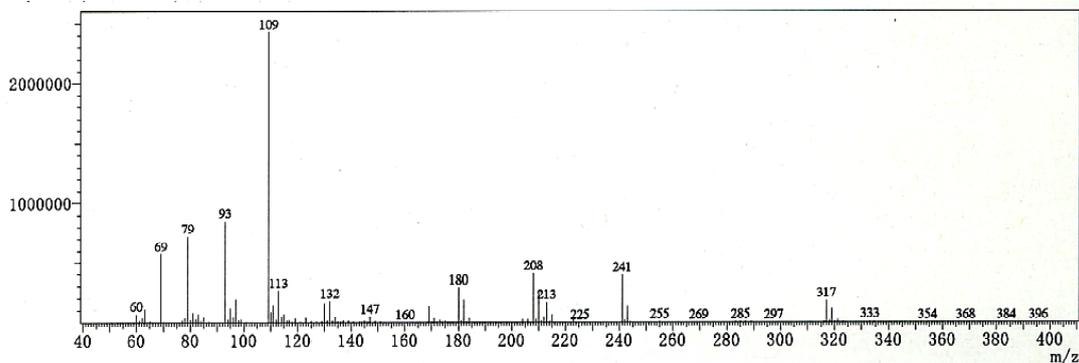


図4. DEPのTFA化体のマススペクトル

悪かったので、通知法どおり、酢酸エチルで行うこととした。

図2による方法で行った添加回収実験結果を表3に示した。回収率はDDVPで75.0～101.9%, DEPで86.2～92.9%, RSDは両農薬とも9%以下と良い結果を得た。また、DEPのTFA化体の検量線も、0.05～2 $\mu$ g/mLの間で、相関係数0.999以上の良好な直線性を示した。

DEPのTFA化体をGC/MSで測定し得られたマススペクトルを図4に示した。m/z=109が主で、その他93, 180, 208, 241等が観察され、TFA化されたDEPのマススペクトルと一致した。<sup>6),7)</sup>

### ま と め

今回通知法のアセフェート及びメタミドホス試験法及びDDVP及びDEP試験法を基に、4種の農薬の試験法の検討を行った。

アセフェートとメタミドホスについては、一斉分析法の検査体制から、緊急時も迅速に対応可能と思われるが、GCの分離カラムについて、DB-5を使用し

た場合、マトリックスの影響が大きく、Matrix STDを使う必要があった。なお、通知法に示されるDB-210を使用すると、マトリックスの影響は小さかった。

DDVPとDEPについては、MBTFAを準備することで、一斉分析法の検査体制から、緊急時も迅速に対応可能であると思われる。

### 参 考 文 献

- 1) 起橋雅浩, 他:食衛誌, 37, 43～47, (1996)
- 2) 根本了, 他:食衛誌, 41, 233～241, (2000)
- 3) 残留農薬迅速分析法開発検討委員会, 食品衛生研究, 47(5), 27～41(1997)
- 4) 本村秀章, 他:長崎県衛生公害研究所報, 40, 110～112, (1994)
- 5) 本村秀章, 他:長崎県衛生公害研究所報, 41, 58～60, (1995)
- 6) 山田信之, 他:食衛誌, 43, 196～201, (2002)
- 7) 本村秀章, 他:平成6年度長崎県衛生公害研究所研究発表会講演要旨集, 33～34