

## フー

# 農作物中残留有機リン系農薬の一斉分析法の検討

大垣有紀, 林 克弘, 一色 博, 川合啓之, 林崎由美子, 竹内 浩, 志村恭子

## Examination of Determination of Residual Organophosphorus Pesticides in Agricultural Products

Yuki OHGAKI, Katsuhiko HAYASHI, Hiroshi ISSHIKI, Hiroyuki KAWAI,  
Yumiko HAYASHIZAKI, Hiroshi TAKEUCHI and Kyoko SHIMURA

FPD(P)-GC を用いて有機リン系農薬 58 種の一斉分析法について検討した。アセトン・酢酸エチル・n-ヘキサン混合溶媒 (独自法) とアセトニトリル (通知改良法) の 2 つの抽出溶媒を用いて添加回収実験を行い比較した結果, 両者間に有意な差は認められなかった。アセトン・酢酸エチル・n-ヘキサン混合溶媒を用いる独自法で, 代表的な 5 農産物を用いて添加回収実験を行ったところ, 本法は有機リン系農薬のスクリーニングとして有用な方法であった。試験溶液の一部を GC/NH<sub>2</sub> 積層ミニカラムを用いて精製し, 測定を行ったところ, 58 農薬中 49 農薬で 70% 以上の良好な回収率であり, 精製を行わなかった場合に比して, マトリックス効果による感度上昇が抑えられることがわかった。さらに, 市販の混合標準溶液を利用することで省力化をはかること, GPC 移動相として用いるジクロロメタンをアセトンに変更し環境負荷の軽減をはかること等の変更, 改良を行った。

キーワード: 有機リン系農薬, 一斉分析法, 混合標準溶液

### はじめに

2008 年, 中国産冷凍ギョウザから有機リン系農薬の検出, 事故米から農薬・カビ毒の検出, 中国産牛乳へのメラミン混入など, 食の安全・安心を脅かす事件が発生し, 消費者の食の安全に対する関心が高まる一方である。このような背景から, 多成分系農薬の一斉分析を行い, 食の安全・安心の確保に貢献することがこれまで以上に求められている。

当研究所では以前よりゲル浸透クロマトグラフ (GPC) を用いた方法で野菜, 果実, 牛乳, 牛脂肪, 加工食品中の残留農薬一斉分析を行っている<sup>1) - 5)</sup>。今回, 環境負荷や分析労力の軽減等のため, GPC に使用しているジクロロメタンの代替, 市販の多成分混合標準溶液の利用, 入手が困難となったアセトニトリルの代替について以下の検討を行ったので, その詳細を報告する。

### 実験方法

#### 1. 試料

市販されているほうれんそう, キャベツ, ばれいしょ, オレンジおよびりんごの 5 農産物を用いた。

#### 2. 試薬

##### 1) 農薬標準品

有機リン系農薬 24 種混合液 (DDVP, メタミドホス, アセフェート, カズサホス, サリチオン, ダイアジノン, イプロベンホス, シアノホス, クロルピリホスメチル, ピリミホスメチル, E-ジメチルピンホス, マラチオン, Z-ジメチルピンホス, -CVP, キナルホス, -CVP, ホスチアゼート, プロパホス, プロフェノホス, エチオン, エディフェンホス, シアノフェンホス, ピリダフェンチオン, ホサロン), 有機リン系農薬 22 種混合液

(エトプロホス, ホレート, チオメトン, テルブホス, エトリムホス, ジクロフェンチオン, ジメトエート, トルクロホスメチル, クロルピリホス, ホルモチオン, フェンチオン, フェントロチオン, イソフェンホス, フェントエート, プロチオホス, メチダチオン, ブタミホス, スルプロホス, フェンスルホチオン, EPN, ホスメット, ピラクロホス) および有機リン系農薬 10 種混合液 (オメトエート, エチルチオメトン, モノクロトホス, プロモホスエチル, フェナミホス, イソキサチオン, パミドチオン, アジンホスメチル, アジンホスエチル, クマホス) は和光純薬工業(株)製残留農薬試験用を用いた。

パラチオンは和光純薬工業(株)製残留農薬試験用標準試薬, パラチオンメチルは関東化学(株)製残留農薬試験用標準試薬を用いた。

## 2) 有機溶媒

n-ヘキサンおよびアセトンは関東化学(株)製残留農薬試験用, 酢酸エチルは和光純薬工業(株)製残留農薬試験用, シクロヘキサンは関東化学(株)製高速液体クロマトグラフ用を用いた。

## 3) その他の試薬等

無水硫酸ナトリウムは関東化学(株)製残留農薬試験用を用いた。

GC/NH<sub>2</sub> 積層ミニカラムは GL Sciences(株)製 Inert Sep GC/NH<sub>2</sub> (500mg/500mg/6mL)を用いた。

## 4) 農薬混合標準溶液

有機リン系農薬 24 種混合液および有機リン系農薬 22 種混合液は農薬濃度 1 $\mu$ g/mL となるようにアセトンで希釈した。パラチオンおよびパラチオンメチルの原標準液(各 200 $\mu$ g/mL アセトン溶液) 各々の適量を取り, 有機リン系農薬 10 種混合液と合わせた後, 農薬濃度 1 $\mu$ g/mL となるようにアセトンで希釈した。必要に応じてさらにこれらをアセトンで希釈して用いた。

## 3. 装置及び測定条件

### 1) FPD(P)-GC

ガスクロマトグラフ: (株)島津製作所製 GC-17A

検出器: FPD(P)

キャピラリーカラム: Agilent 社製 DB-1701 0.32mm i.d.  $\times$  30m, 膜厚 0.25 $\mu$ m

カラム槽温度: 60 (2min) 25 / min 150

5 / min 270 (20min)

注入口温度: 250

検出器温度: 270

キャリアガス: He

メイクアップガス: N<sub>2</sub>

検出器水素流量: 100mL/min

検出器空気流量: 100mL/min

注入量: 1 $\mu$ L (Splitless)

### 2) GPC

装置: (株)島津製作所製 LC-10A

カラム: Shodex 社製 CLNpak EV-2000AC 20mm i.d.  $\times$  300mm, CLNpak EV-G AC 20mm i.d.  $\times$  100mm (ガードカラム)

カラム槽温度: 40

移動相: アセトン・シクロヘキサン (1:4)

流速: 5mL/min

### 3) 固相加圧送液装置

装置: GL Sciences(株)製 AQUA Loader SPL698

移動相: アセトン・n-ヘキサン(1:1)

流速: 2mL/min

## 4. 試験溶液の調製法

### 1) 独自法

既報<sup>3)</sup>の方法を参考に, 以下のとおり調製した。試料 25g を採取し, アセトン・酢酸エチル・n-ヘキサン (2:9:9, v/v/v) の混合溶媒 150mL および硫酸ナトリウム 150g を加えてホモジナイズ (5000rpm, 5min) した後, ろ紙 (アドバンテック No.5C) で吸引ろ過した。容器および残渣をアセトン・酢酸エチル・n-ヘキサン (2:9:9, v/v/v) 約 30mL で 3 回洗浄し, その洗浄液も吸引ろ過した。先のろ液と合わせ, 40 の水浴中で溶媒を減圧留去した。残留物にアセトン・シクロヘキサン (1:4, v/v) を加えて溶かし, 正確に 5mL とした後, 遠心分離 (3500rpm, 10min) した。その上澄液 4mL を GPC 装置に正確に注入し, 65~130mL の溶出画分を分取した。この画分を約 1mL まで減圧濃縮し, アセトン約 30mL を加え同様に濃縮した後, アセトンを加えて正確に 4mL としたものを試験溶液とした。以上の操作法を図 1 に示した。

### 2) 通知改良法

2005 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知の GC/MS による農薬等の一斉分析法(農産物)を一部改良し, 以下のとおり調製した。試料 25g を採取し, アセトニトリル 50mL を加えてホモジナイズ (5000rpm, 5min) した後, ろ過助剤としてセライトを用いて吸引ろ過した。ろ紙上の残渣にアセトニトリル 20mL を加え, 再びホモジナイズした後, 吸引ろ過した。先のろ液と合一し, アセトニトリルを加えて正確に 100mL とした。この抽出液に塩化ナトリウム 50g および 0.5mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0) 100mL を加えて 5 分間振とうした。静

置して分離した水層を除去後、アセトニトリル層に硫酸ナトリウム 25g を加えて、10 分間静置して脱水した。ろ紙（アドバンテック No.5C）で硫酸ナトリウムを除去した後、アセトニトリル層を 40 の水浴中で減圧留去した。残留物にアセトン・シクロヘキサン（1:4, v/v）を加えて溶かし、正確に 5mL とした後、遠心分離（3500rpm, 10min）した。その上澄液 4mL を GPC 装置に正確に注入し、65～130mL の溶出画分を分取した。この画分を約 1mL まで減圧濃縮し、アセトン約 30mL を加え同様に濃縮した後、アセトンを加えて正確に 4mL としたものを試験溶液とした。以上の操作法を図 2 に示した。

### 3) 追加精製

前述の 1) 独自法に従って調製した試験溶液から 1mL を分取し、乾固した後アセトン・n-ヘキサン(1:1) 1mL で溶解した。あらかじめアセトン・n-ヘキサン(1:1) 10mL でコンディショニングした GC/NH<sub>2</sub> 積層ミニカラム(500mg/500mg/6mL)に試験溶液を負荷し、アセトン・n-ヘキサン(1:1) 20mL を通液してクリーンアップした。溶出液を減圧乾固した後アセトンをういて正確に 1mL とし、これを精製済試験溶液とした。

## 5. 添加回収実験

試料 25g を採取し、農薬混合標準溶液 1μg/mL

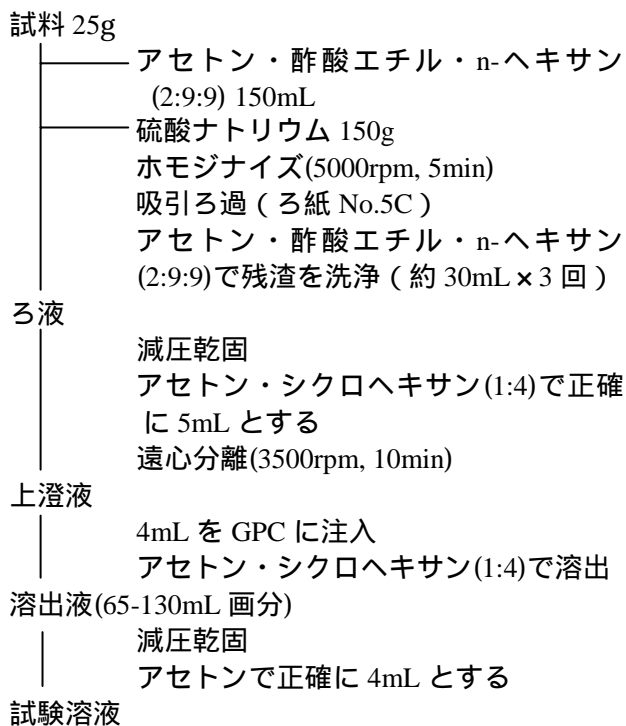


図 1 試験溶液の調製法（独自法）

を 2.5mL 加え、以降、4. 試験溶液の調製法、1) 独自法に従って操作したものを添加回収実験の試験溶液とした。

## 実験結果および考察

### 1. 保持時間の確認と検量線および検出限界、定量限界の検討

58 種農薬の FPD(P)-GC による測定を行ったところ、各農薬が良好に分離されていることを確認した。表 1 にその結果を、図 3 に農薬混合標準液（各農薬 0.5μg/mL）のクロマトグラムを示す。

次に 58 種農薬の検量線の直線性を確認した。0.02～1.0μg/mL の濃度範囲で測定を行い、検量線を作成したところ、表 1 に示すとおり良好な直線性を示した。また検出限界をクロマトグラム上の S/N 比 3 とすると、0.005～0.2μg/mL で、試料 25g に対する検出限界は 0.001～0.04ppm であった。同様に定量限界をクロマトグラム上の S/N 比 10 とすると、0.02～0.5μg/mL で、試料 25g に対する定量限界は 0.004～0.1ppm であった。

試料 25g

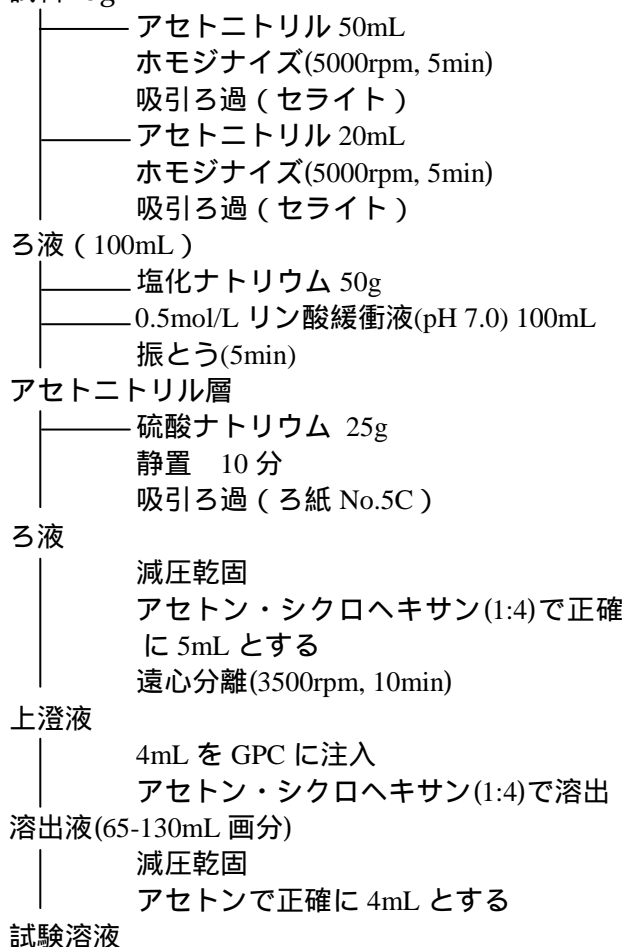


図 2 試験溶液の調製法（通知改良法）

表1 有機リン系農薬の保持時間，検量線の直線性および検出限界

農薬	保持時間 (min)	濃度範囲 ( $\mu\text{g/mL}$ )	相関係数	検出限界		定量限界		
				( $\mu\text{g/mL}$ )	(ppm)	( $\mu\text{g/mL}$ )	(ppm)	
1-1	DDVP	7.83	0.02-0.2	0.9999	0.005	0.001	0.02	0.004
1-2	メタミドホス	8.93	0.02-0.2	0.9996	0.01	0.002	0.02	0.004
1-3	アセフェート	12.61	0.05-0.5	0.9995	0.05	0.01	0.2	0.04
1-4	カズサホス	13.73	0.02-0.2	0.9993	0.01	0.002	0.05	0.01
1-5	サリチオン	15.00	0.02-0.2	0.9998	0.01	0.002	0.02	0.004
1-6	ダイアジノン	15.62	0.02-0.2	0.9995	0.01	0.002	0.02	0.004
1-7	イプロベンホス	17.17	0.02-0.2	0.9996	0.01	0.002	0.05	0.01
1-8	シアノホス	17.59	0.02-0.2	0.9998	0.01	0.002	0.05	0.01
1-9	クロルピリホスメチル	17.93	0.02-0.2	0.9994	0.01	0.002	0.05	0.01
1-10	ピリミホスメチル	18.82	0.02-0.2	0.9998	0.01	0.002	0.05	0.01
1-11	E-ジメチルピホス	19.95	0.02-0.2	0.9999	0.01	0.002	0.05	0.01
1-12	マラチオン	20.24	0.02-0.2	0.9996	0.01	0.002	0.05	0.01
1-13	Z-ジメチルピホス	20.66	0.02-0.2	0.9999	0.02	0.004	0.05	0.01
1-14	-CVP	21.30	0.02-0.2	0.9998	0.01	0.002	0.05	0.01
1-15	キナルホス	21.76	0.02-0.2	0.9998	0.01	0.002	0.05	0.01
1-16	-CVP	21.93	0.02-0.2	1.0000	0.01	0.002	0.05	0.01
1-17	ホスチアゼート	22.48, 22.58	0.05-0.5	0.9995	0.05	0.01	0.1	0.02
1-18	プロバホス	22.86	0.02-0.2	0.9999	0.01	0.002	0.05	0.01
1-19	プロフェノホス	23.42	0.02-0.2	0.9999	0.02	0.004	0.05	0.01
1-20	エチオン	25.63	0.02-0.2	0.9994	0.005	0.001	0.02	0.004
1-21	エディフェンホス	26.97	0.02-0.2	0.9997	0.02	0.004	0.1	0.02
1-22	シアノフェンホス	27.67	0.02-0.2	0.9996	0.01	0.002	0.05	0.01
1-23	ピリダフェンチオン	29.78	0.02-0.2	0.9999	0.01	0.002	0.05	0.01
1-24	ホサロン	31.52	0.02-0.2	0.9999	0.02	0.004	0.1	0.02
2-1	エトプロホス	13.18	0.02-0.2	0.9996	0.005	0.001	0.02	0.004
2-2	ホレート	14.13	0.02-0.2	0.9997	0.01	0.002	0.02	0.004
2-3	チオメトン	14.89	0.02-0.2	0.9998	0.01	0.002	0.05	0.01
2-4	テルブホス	15.44	0.02-0.2	0.9998	0.01	0.002	0.05	0.01
2-5	エトリムホス	16.39	0.02-0.2	0.9998	0.01	0.002	0.05	0.01
2-6	ジクロフェンチオン	17.32	0.02-0.2	0.9997	0.01	0.002	0.05	0.01
2-7	ジメトエート	17.84	0.02-0.2	0.9998	0.02	0.004	0.05	0.01
2-8	トルクロホスメチル	18.39	0.02-0.2	0.9996	0.01	0.002	0.05	0.01
2-9	クロルピリホス	19.46	0.02-0.2	0.9997	0.01	0.002	0.05	0.01
2-10	ホルモチオン	19.95	0.02-0.2	0.9999	0.02	0.004	0.05	0.01
2-11	フェンチオン	20.12	0.02-0.2	0.9998	0.01	0.002	0.05	0.01
2-12	フェントロチオン	20.41	0.02-0.2	0.9996	0.01	0.002	0.05	0.01
2-13	イソフェンホス	21.74	0.02-0.2	0.9996	0.01	0.002	0.05	0.01
2-14	フェントエート	22.00	0.02-0.2	1.0000	0.01	0.002	0.05	0.01
2-15	プロチオホス	22.65	0.02-0.2	0.9995	0.01	0.002	0.05	0.01
2-16	メチダチオン	23.35	0.02-0.2	0.9997	0.02	0.004	0.05	0.01
2-17	ブタミホス	23.99	0.02-0.2	0.9995	0.01	0.002	0.05	0.01
2-18	スルプロホス	25.73	0.02-0.2	0.9997	0.01	0.002	0.05	0.01
2-19	フェンスルホチオン	27.21	0.02-0.2	0.9996	0.01	0.002	0.05	0.01
2-20	EPN	29.63	0.02-0.2	0.9998	0.01	0.002	0.05	0.01
2-21	ホスメット	30.19	0.05-0.5	0.9996	0.05	0.01	0.1	0.02
2-22	ピラクロホス	32.77	0.05-0.5	0.9993	0.05	0.01	0.1	0.02
3-1	オメトエート	15.35	0.1-0.6	0.9980	0.1	0.02	0.5	0.1
3-2	エチルチオメトン	16.32	0.02-0.2	0.9998	0.01	0.002	0.05	0.01
3-3	モノクロトホス	17.51	0.05-0.5	0.9992	0.05	0.01	0.1	0.02
3-4	パラチオンメチル	19.57	0.02-0.2	0.9998	0.01	0.002	0.05	0.01
3-5	パラチオン	21.10	0.02-0.2	0.9995	0.01	0.002	0.05	0.01
3-6	プロモホスエチル	21.60	0.02-0.2	0.9992	0.01	0.002	0.05	0.01
3-7	フェナミホス	24.14	0.02-0.2	0.9998	0.01	0.002	0.05	0.01
3-8	イソキサチオン	25.11	0.05-0.5	0.9974	0.05	0.01	0.1	0.02
3-9	バミドチオン	25.69	0.2-1.0	0.9837	0.1	0.02	0.5	0.1
3-10	アジンホスメチル	31.75	0.2-1.0	0.9979	0.2	0.04	0.5	0.1
3-11	アジンホスエチル	32.98	0.02-0.2	0.9984	0.05	0.01	0.1	0.02
3-12	クマホス	36.49	0.05-0.5	0.9997	0.05	0.01	0.2	0.04

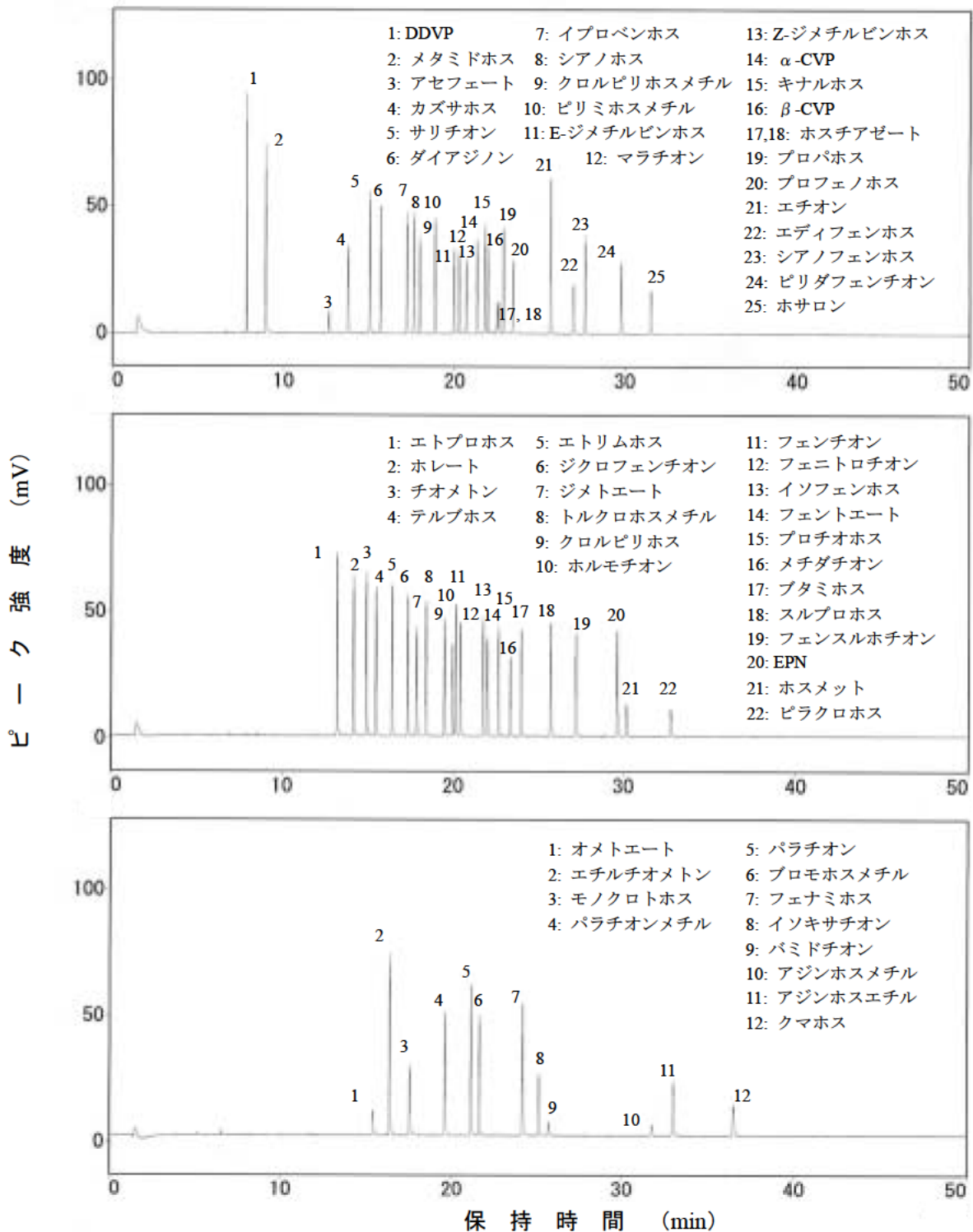


図3 農薬標準溶液のクロマトグラム (各農薬0.5 μg/mL)

## 2. GPCにおける農薬成分の溶出挙動

既報<sup>3)</sup>の方法では、シクロヘキサン・ジクロロメタン混液を使用しているが、環境負荷の軽減を目指し、今回はアセトン・シクロヘキサン混液での検討を行った。GPC条件に従って、58種農薬混

合標準溶液 0.4μg/mL を 4mL 注入し、溶出液 60~140mL を 5mL 毎に分画した。各画分をFPD(P)-GCで測定し、溶出画分および溶出率を確認した。その結果、表 2 に示すとおり、農薬は 65~125mL の範囲で溶出していることが明らかになった。な

表2 GPCにおける有機リン系農薬の溶出挙動

農薬	溶出画分 (5mL 毎) (%)													溶出率 (%)	
	60-65	-70	-75	-80	-85	-90	-95	-100	-105	-110	-115	-120	-125		-130
1-1	DDVP				1	44	52	3							92
1-2	メタミドホス								36	56	8				123
1-3	アゼフェート							68	32						128
1-4	カズサホス	2	63	34	2										97
1-5	サリチオン								18	62	19	1			99
1-6	ダイアジノン	7	67	25	1										98
1-7	イプロベンホス		15	71	14										100
1-8	シアノホス						13	65	22						101
1-9	クロルピリホスメチル					20	61	18	1						100
1-10	ピリミホスメチル		3	58	36	3									98
1-11	E-ジメチルピンホス				16	64	20								104
1-12	マラチオン			12	64	23	1								100
1-13	Z-ジメチルピンホス					19	63	18							105
1-14	-CVP		11	65	20	3									99
1-15	キナルホス				14	62	22	1							99
1-16	-CVP			34	56	9	1								98
1-17	ホスチアゼート						50	47	3						114
1-18	プロバホス			19	65	15									93
1-19	プロフェノホス			19	65	16									100
1-20	エチオン		31	60	9										98
1-21	エディフェンホス					4	50	40	5						108
1-22	シアノフェンホス				1	36	53	10							98
1-23	ピリダフェンチオン					16	61	24							95
1-24	ホサロン				19	60	21								100
2-1	エトプロホス			42	54	4									100
2-2	ホレート			32	60	7									95
2-3	チオメトン					28	63	9							80
2-4	テルブホス	4	65	31											97
2-5	エトリムホス		1	54	42	3									100
2-6	ジクロフェンチオン		5	66	28	2									99
2-7	ジメトエート						3	56	38	3					129
2-8	トルクロホスメチル					4	55	37	4						100
2-9	クロルピリホス			42	52	6									100
2-10	ホルモチオン							38	54	8					83
2-11	フェンチオン						7	58	32	3					95
2-12	フェニトロチオン						30	59	11						99
2-13	イソフェンホス	32	59	9											98
2-14	フェントエート				9	60	29	2							101
2-15	プロチオホス		14	68	18										99
2-16	メチダチオン							2	39	50	8				109
2-17	ブタミホス		32	60	9										98
2-18	スルプロホス			3	51	42	4								95
2-19	フェンスルホチオン					3	48	43	6						112
2-20	EPN					25	60	15							97
2-21	ホスメット										56	44			98
2-22	ピラクロホス				26	59	15								118
3-1	オメトエート									100					262
3-2	エチルチオメトン		1	49	47	3									85
3-3	モノクロトホス						50	50							138
3-4	パラチオンメチル						4	54	39	3					102
3-5	パラチオン			1	43	50	5								97
3-6	プロモホスエチル		9	67	24										99
3-7	フェナミホス			24	65	12									93
3-8	イソキサチオン				42	52	6								147
3-9	パミドチオン								100						166
3-10	アジンホスメチル												100		129
3-11	アジンホスエチル							37	51	12					112
3-12	クマホス					29	59	12							116

お、溶出画分の割合は全溶出量を 100%として計算した。また各農薬の 65~130mL 溶出画分を測定したところ(3 試行), 溶出率はいずれも 80%以上と良好であった。

### 3. 抽出溶媒の検討

2005 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知の GC/MS による農薬等の一斉分析法(農産物)では, 農作物からの農薬の抽出操作にアセトニトリルを用いている。そこで前述 4. 試験溶液の調製法で示した, 独自法および通知改良法の 2 つの方法で, ほうれんそうを用いて添加回収実験を試みた。試料 25g を採取し農薬混合標準溶液 1 $\mu$ g/mL を 2.5mL 加え, 以降, 4. 試験溶液の調製法 1) 独自法および 2) 通知改良法に従って操作した(試料濃度 0.1ppm)。

ほうれんそうを用いた添加回収実験の結果を表 3 に示した。その結果, アセフェート, ホスチアゼート, エディフェンホス, ホスメット, ピラクロホス, オメトエート, パミドチオン, アジンホスメチルでマトリックス効果により, 100%を大きく上回る回収率を示すものの, 2 つの抽出法を用いた結果において, チオメトン, エチルチオメトン, フェナミホスを除くすべての農薬において 70%以上の良好な回収率で, この 2 つの方法に有意な差はないと判断した。また, アセトニトリルの入手が困難なことも考慮し, 試験溶液の調製には, 抽出溶媒としてアセトン・酢酸エチル・n-ヘキサン混合溶媒を用いる独自法を採用した。

### 4. 添加回収率

5 農産物を用いて試料 25g を採取し, 農薬混合標準溶液 1 $\mu$ g/mL を 2.5mL 加え(試料濃度 0.1ppm), 以下図 1 に従って操作し, それぞれの回収率を求めた(各 5 試行)。測定の結果を表 4 精製前欄に示した。

ほうれんそう, ばれいしょ, オレンジおよびりんごにおいてはクロマトグラム上に妨害となるようなピークは認められなかったが, キャベツでは 15.4 分あたりに大きな妨害ピークが見られ, テルブホス, オメトエートの定量が不可能であった。さらに, 標準溶液の感度が不十分で一部定量が不可能であったイソキサチオン, パミドチオン, アジンホスメチルを除く 53 農薬中, チオメトンのみキャベツでは 66.6%とわずかに 70%に達しなかったが, それ以外のすべての農薬で 70%以上の回収率を示した。ただし, いくつかの農薬においてマトリックス効果による回収率の上昇が見られ, アセフェート, ホスチアゼート, エディフェンホス, ピリダフェンチオン, ホサロン, フェンスル

表 3 抽出溶媒の違いによる回収率の比較 (n=3)

農薬	通知改良法		独自法	
	回収率 (%)	CV (%)	回収率 (%)	CV (%)
1-1 DDVP	103.8	2.80	109.2	0.78
1-2 メタミドホス	89.0	1.83	153.3	3.09
1-3 アセフェート	150.6	4.79	273.7	4.29
1-4 カズサホス	100.8	2.86	100.5	0.55
1-5 サリチオン	100.8	2.35	103.9	0.67
1-6 ダイアジノン	98.2	2.70	100.1	0.93
1-7 イプロベンホス	101.3	2.37	84.9	1.04
1-8 シアノホス	106.5	2.79	109.6	0.81
1-9 クロルピリホスメチ	107.6	2.36	111.3	1.11
1-10 ピリミホスメチル	98.3	2.19	100.5	1.06
1-11 E-ジメチルピホス	122.7	3.22	139.0	1.24
1-12 マラチオン	115.4	3.78	132.1	1.08
1-13 Z-ジメチルピホス	125.4	3.40	143.4	0.77
1-14 -CVP	104.4	2.23	109.0	1.10
1-15 キナルホス	101.3	2.67	104.4	1.45
1-16 -CVP	106.3	2.94	112.3	0.25
1-17 ホスチアゼート	148.6	4.56	220.1	0.85
1-18 プロバホス	93.8	8.17	101.8	1.22
1-19 プロフェノホス	117.6	3.09	140.0	1.11
1-20 エチオン	89.8	4.31	103.2	1.13
1-21 エディフェンホス	150.9	4.05	235.2	2.32
1-22 シアノフェンホス	99.3	2.15	103.4	1.00
1-23 ピリダフェンチオン	116.5	2.41	130.0	1.67
1-24 ホサロン	129.4	2.92	144.3	0.82
2-1 エトプロホス	94.3	3.48	98.9	2.12
2-2 ホレート	82.2	5.76	85.0	0.91
2-3 チオメトン	64.3	11.23	56.2	2.63
2-4 テルブホス	83.4	4.57	87.6	1.07
2-5 エトリムホス	91.5	3.26	95.7	1.87
2-6 ジクロフェンチオン	86.3	3.19	91.2	2.00
2-7 ジメトエート	124.7	5.77	132.8	2.09
2-8 トルクロホスメチル	87.7	3.20	92.5	2.23
2-9 クロルピリホス	87.6	3.28	93.6	2.28
2-10 ホルモチオン	109.5	5.07	114.0	1.79
2-11 フェンチオン	79.5	5.93	82.2	1.81
2-12 フェニトロチオン	97.9	3.74	102.9	2.74
2-13 イソフェンホス	85.2	3.00	89.9	1.70
2-14 フェントエート	93.1	3.11	97.8	1.48
2-15 プロチオホス	82.8	2.41	88.3	1.39
2-16 メチダチオン	115.0	4.90	120.0	2.07
2-17 ブタミホス	90.3	3.91	95.8	1.52
2-18 スルプロホス	75.4	6.81	80.5	1.49
2-19 フェンスルホチオン	119.4	5.57	126.8	2.54
2-20 EPN	93.7	3.82	98.9	1.57
2-21 ホスメット	202.0	10.09	207.8	9.59
2-22 ピラクロホス	404.1	14.42	387.4	15.92
3-1 オメトエート	191.8	10.79	296.0	19.31
3-2 エチルチオメトン	69.1	9.52	68.8	13.30
3-3 モノクロトホス	156.6	2.65	199.9	12.22
3-4 パラチオンメチル	111.8	2.47	123.8	3.33
3-5 パラチオン	96.5	2.05	104.9	2.94
3-6 プロモホスエチル	95.3	1.52	104.6	4.35
3-7 フェナミホス	55.8	4.28	30.1	3.46
3-8 イソキサチオン	462.6	89.13	-	-
3-9 パミドチオン	329.8	19.71	294.7	43.79
3-10 アジンホスメチル	244.7	3.66	331.0	16.00
3-11 アジンホスエチル	135.8	1.88	156.0	4.77
3-12 クマホス	154.9	2.23	181.8	6.06

表4 農産物からの有機リン系農薬の添加回収率 (n=5)

農薬	ほうれんそう				キャベツ				ばれいしょ				オレンジ				りんご				
	精製前		精製後		精製前		精製後		精製前		精製後		精製前		精製後		精製前		精製後		
	回収率(%)	CV (%)	回収率(%)	CV (%)	回収率(%)	CV (%)	回収率(%)	CV (%)	回収率(%)	CV (%)	回収率(%)	CV (%)	回収率(%)	CV (%)	回収率(%)	CV (%)	回収率(%)	CV (%)	回収率(%)	CV (%)	
1-1	DDVP	119.8	6.22	59.7	6.19	95.7	1.29	74.6	2.38	104.7	4.31	55.4	2.06	115.4	4.01	60.3	2.94	114.9	2.97	63.6	2.65
1-2	メタミドホス	170.8	17.15	83.8	8.53	98.3	4.25	103.7	5.66	108.7	2.43	73.5	2.45	96.4	7.25	48.3	5.05	147.5	10.71	90.1	5.24
1-3	アセフェート	252.8	29.98	54.1	9.54	109.7	2.43	73.7	7.65	174.5	3.25	58.7	1.88	218.9	22.07	46.4	6.58	336.3	34.90	95.6	6.13
1-4	カズサホス	113.7	4.90	97.7	3.42	95.8	0.80	94.6	2.29	106.4	1.70	88.8	1.15	107.8	2.52	101.4	5.23	104.9	2.22	102.8	1.99
1-5	サリチオン	118.3	6.11	105.1	3.68	97.8	0.99	101.4	3.21	106.8	2.11	88.1	1.11	112.8	2.67	101.5	5.98	106.9	3.32	101.5	1.30
1-6	ダイアジノン	107.6	4.10	106.0	5.03	91.0	0.54	91.0	2.44	101.7	1.12	92.3	2.19	105.4	2.03	100.0	5.38	101.9	2.78	101.5	2.04
1-7	イプロベンホス	119.8	6.90	87.9	8.29	92.4	1.21	97.8	3.18	119.3	1.72	95.2	1.24	111.2	2.75	102.9	5.50	108.8	3.14	104.7	1.84
1-8	シアノホス	132.8	6.33	110.3	3.70	98.7	1.10	106.8	3.06	121.3	1.81	97.8	1.70	124.0	3.46	111.4	6.44	115.0	3.82	109.6	2.48
1-9	クロルピリホスメチル	122.6	5.21	104.6	3.60	98.1	0.79	102.0	2.96	112.9	2.08	93.4	1.23	118.1	3.08	107.6	6.30	112.4	3.50	107.9	2.15
1-10	ピリミホスメチル	110.1	4.24	102.6	2.03	93.1	1.16	96.7	3.75	103.6	1.21	94.6	1.85	105.1	1.97	102.3	5.92	103.2	3.10	102.1	1.88
1-11	E-ジメチルピンホス	163.3	9.54	109.0	3.21	108.3	1.01	110.0	4.07	155.3	2.56	95.1	1.83	151.8	4.71	109.4	6.34	147.3	6.35	114.0	2.28
1-12	マラチオン	119.9	4.10	96.5	9.17	98.0	1.13	99.8	3.91	115.1	1.76	97.0	2.18	120.5	2.74	105.0	5.87	115.2	3.72	107.4	2.37
1-13	Z-ジメチルピンホス	158.8	9.91	99.8	6.72	105.4	1.42	107.3	4.25	148.8	3.18	94.9	1.47	153.4	4.95	104.7	6.52	151.4	7.24	113.8	3.89
1-14	-CVP	128.9	6.19	106.8	3.77	96.8	1.34	100.6	4.41	125.5	2.13	94.4	1.50	116.3	2.68	101.3	5.84	115.6	3.75	106.2	2.65
1-15	キナルホス	119.9	4.14	107.7	3.23	95.6	0.98	102.4	3.55	110.5	1.52	100.4	1.64	112.9	2.15	106.3	5.73	107.0	3.33	107.0	2.34
1-16	-CVP	125.1	6.02	101.9	3.20	94.7	1.71	99.8	3.13	118.2	2.14	92.5	1.17	114.1	2.71	98.4	5.20	117.9	3.81	104.4	3.56
1-17	ホスチアゼート	178.0	11.78	109.8	1.06	109.8	1.06	119.1	4.98	157.3	5.13	95.9	1.80	225.2	11.28	111.6	7.26	243.7	14.35	127.1	4.60
1-18	プロパホス	141.3	7.73	93.2	4.23	92.3	2.07	99.1	4.52	119.6	5.59	93.3	2.97	122.7	2.74	100.6	5.77	116.2	2.51	101.4	2.43
1-19	プロフェノホス	153.2	8.67	115.7	9.16	101.1	1.70	107.5	3.86	143.9	2.55	94.6	1.49	148.0	3.84	105.0	6.45	134.6	4.98	110.2	3.55
1-20	エチオン	115.5	4.36	103.4	2.97	96.5	0.99	100.9	3.42	111.1	1.73	98.9	1.80	110.7	1.99	104.2	5.97	105.3	3.01	105.7	2.76
1-21	エディフェンホス	225.5	19.60	114.8	3.94	113.5	0.78	125.1	5.15	182.4	4.38	98.9	2.17	307.5	18.74	118.3	6.85	221.6	17.09	129.8	5.17
1-22	シアノフェンホス	122.3	4.45	104.1	2.35	96.7	0.90	101.8	3.88	113.3	2.65	100.3	2.06	119.2	1.99	102.8	6.14	109.3	3.41	104.6	2.72
1-23	ピリダフェンチオン	206.0	12.12	108.7	3.80	103.2	1.17	117.1	4.20	160.3	2.84	102.6	2.26	217.7	7.47	115.9	7.25	169.6	7.25	114.1	3.19
1-24	ホサロン	211.9	12.96	116.5	5.62	106.8	1.05	125.1	5.24	170.8	3.59	107.5	2.40	268.8	10.82	132.3	7.13	182.3	9.11	121.7	4.19
2-1	エトプロホス	114.7	6.22	88.5	3.73	94.6	2.80	98.0	3.89	114.7	6.22	90.5	3.91	107.7	1.42	102.8	1.69	105.1	1.86	100.4	3.63
2-2	ホレート	106.6	6.70	80.8	3.23	84.8	2.24	90.0	3.42	96.8	5.01	83.4	3.07	101.3	1.44	99.2	1.65	97.4	1.45	93.4	4.19
2-3	チオメトン	99.0	5.70	76.2	3.34	66.6	2.25	78.2	2.63	81.2	8.85	71.7	4.69	96.7	1.60	96.2	1.01	83.9	3.30	77.8	4.03
2-4	テルブホス	106.0	5.93	81.4	3.94	-	-	-	-	98.2	4.72	84.5	3.45	100.1	1.37	99.6	1.26	97.6	1.31	96.7	3.94
2-5	エトリムホス	111.5	6.43	87.7	3.59	91.3	2.62	96.8	3.09	107.4	4.59	93.1	3.59	103.6	1.81	104.5	1.45	104.2	0.42	104.4	2.38



表4(続き)

農薬	ほうれんそう				キャベツ				ばれいしょ				オレンジ				りんご				
	精製前		精製後		精製前		精製後		精製前		精製後		精製前		精製後		精製前		精製後		
	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	回収率(%)	CV(%)	
2-6	ジクロフェンチオン	107.9	6.21	86.5	2.38	90.2	2.65	95.2	3.45	101.7	3.72	93.0	3.39	100.1	1.38	100.9	1.56	100.0	0.77	101.6	3.00
2-7	ジメトエート	149.0	9.27	109.7	4.50	104.7	2.89	117.4	3.41	180.4	17.66	106.0	5.21	155.5	10.95	109.2	5.91	161.1	5.52	119.3	3.32
2-8	トルクロホスメチル	110.2	6.11	88.5	3.46	91.9	2.97	96.3	3.04	105.5	4.56	92.8	3.79	102.9	1.44	102.3	1.56	102.9	1.43	102.6	2.52
2-9	クロルピリホス	107.3	6.20	87.4	3.38	88.9	2.75	95.3	2.78	105.1	5.01	94.4	3.25	101.8	1.50	102.5	0.89	103.6	1.31	104.0	2.20
2-10	ホルモチオン	141.1	8.59	89.2	4.00	102.0	2.64	106.5	1.03	168.0	14.28	97.1	5.48	153.9	5.28	110.5	2.67	144.2	3.87	109.0	2.46
2-11	フェンチオン	108.0	6.55	88.5	3.70	88.5	2.63	95.2	2.59	103.0	6.94	91.9	2.79	103.3	1.82	101.7	1.05	101.0	1.64	100.8	1.93
2-12	フェニトロチオン	122.3	8.05	91.9	3.79	96.7	2.98	101.1	2.14	127.5	9.42	96.0	4.52	118.2	2.58	104.5	1.33	114.2	2.78	101.2	2.30
2-13	イソフェンホス	106.3	6.35	89.8	3.95	91.3	2.95	95.9	2.92	103.9	4.45	97.4	3.47	99.3	1.13	101.9	1.14	99.2	1.24	104.2	2.03
2-14	フェントエート	115.1	6.88	95.4	4.71	98.5	2.81	99.2	2.49	117.1	6.18	100.8	3.91	107.9	1.33	105.9	1.70	109.1	2.32	108.2	2.27
2-15	プロチオホス	108.0	6.68	90.0	3.70	92.7	3.09	96.3	3.08	105.5	5.30	98.3	6.09	102.1	1.23	102.1	1.28	101.2	1.38	103.0	2.28
2-16	メチダチオン	142.8	9.02	98.3	5.29	102.8	2.90	108.7	2.52	171.3	15.72	99.6	5.26	159.0	4.17	112.1	2.14	146.5	4.19	112.8	1.83
2-17	ブタミホス	108.3	6.32	90.6	3.56	93.8	2.90	96.2	2.83	105.2	4.67	95.3	3.44	100.8	1.64	101.3	1.45	99.8	1.47	100.3	2.69
2-18	スルプロホス	109.2	6.49	90.4	3.52	91.1	2.71	96.8	3.41	102.9	6.62	94.3	2.71	102.7	1.05	102.4	1.50	99.0	1.39	101.5	2.00
2-19	フェンスルホチオン	165.3	10.98	113.0	4.87	102.0	2.61	122.2	3.42	238.9	26.22	108.6	6.40	193.2	9.10	118.0	4.89	172.6	4.01	119.0	2.58
2-20	EPN	122.2	7.81	96.0	3.34	96.1	3.10	102.7	3.15	132.2	10.22	99.7	4.67	123.9	2.32	102.8	1.36	113.1	2.06	92.9	3.17
2-21	ホスメット	251.0	14.55	123.3	7.33	125.3	3.55	144.4	2.25	361.5	50.63	116.7	8.98	534.7	25.03	147.6	4.67	284.1	14.69	145.9	4.67
2-22	ピラクロホス	299.5	20.52	134.2	8.23	148.7	4.11	172.9	3.92	501.7	79.38	125.1	10.96	893.2	44.95	167.7	3.94	432.9	25.57	178.9	2.44
3-1	オメトエート	187.8	4.86	107.2	5.87	-	-	-	-	272.8	17.63	107.2	6.33	-	-	93.7	15.03	-	-	129.1	5.02
3-2	エチルチオメトン	86.6	3.00	72.9	5.96	71.9	4.86	77.9	2.99	71.4	6.83	69.9	5.80	97.3	1.62	93.5	2.67	88.9	1.61	78.5	1.89
3-3	モノクロトホス	168.0	4.34	108.9	5.14	116.1	5.03	140.8	5.41	248.9	14.09	112.8	5.01	402.4	56.58	98.7	12.77	241.4	22.23	124.4	1.99
3-4	パラチオンメチル	127.3	2.68	100.8	5.86	99.8	5.11	111.2	3.71	142.4	2.73	102.3	4.08	145.3	5.98	112.3	3.27	122.5	3.22	105.8	0.77
3-5	パラチオン	108.8	2.35	92.5	6.36	96.6	5.24	97.7	2.99	105.7	2.87	96.8	3.78	108.4	2.36	98.8	1.54	102.9	0.79	98.1	1.67
3-6	プロモホスエチル	107.5	2.00	92.7	6.74	95.5	4.55	99.3	2.85	103.8	2.58	99.3	2.97	104.5	2.11	104.1	2.35	102.1	0.59	104.9	1.18
3-7	フェナミホス	63.0	0.79	61.9	1.79	93.8	5.56	104.8	4.40	127.4	18.63	92.3	4.79	152.8	5.35	110.3	3.62	119.5	3.94	100.4	2.42
3-8	イソキサチオン	-	-	-	-	87.8	2.61	179.1	7.65	974.2	140.38	308.3	14.09	-	-	153.2	2.06	-	-	628.2	29.10
3-9	バミドチオン	223.0	9.09	115.5	7.15	139.7	7.45	189.3	11.90	281.3	100.84	95.6	13.49	-	-	149.9	28.27	-	-	139.9	10.05
3-10	アジンホスメチル	279.7	12.60	128.7	9.94	115.7	8.67	175.8	9.85	453.7	32.65	-	-	-	-	213.5	21.44	-	-	160.8	4.27
3-11	アジンホスエチル	160.1	3.48	114.1	7.34	98.2	5.54	130.8	5.13	215.3	9.36	112.3	5.76	423.7	23.68	140.9	8.12	183.7	6.92	122.0	1.18
3-12	クマホス	187.6	5.21	119.5	9.01	118.2	19.44	142.3	6.06	264.4	17.51	112.0	5.13	766.7	53.70	164.0	10.39	206.0	8.48	129.3	1.34

ホチオン, ホスメット, ピラクロホス, モノクロトホス, アジンホスエチル, クマホスではその効果が特に顕著であった。この結果から, 精製方法などにさらなる工夫が必要となるが, 農薬検出のスクリーニング法としては有用な方法であることが明らかとなった。

## 5. マトリックス効果の確認

前述の添加回収実験において 100% を大きく上回る回収率を示すものが見られ, これらの農薬ではガスクロマトグラフ測定におけるマトリックス効果が強く現れた結果と考えられる。そこでさらなる精製が必要と考え, 試験溶液の一部をミニカラムカートリッジを用いて精製を行い, 回収率の確認を行った。前述 4. 試験溶液の調製法 3) 追加精製に従って, 精製済試験溶液を調製した。この際, 固相加圧送液装置を用いて通液速度を 2mL/min に保ち, 再現性を高くするとともに, 作業の自動化を試みた。このようにしてそれぞれの回収率を求めた (各 5 試行)。測定の結果を表 4 精製済欄に示した。

キャベツサンプルで検出された妨害ピークは, この方法で完全に除去することはできず, テルブホス, オメトエートの定量が不可能であった。標準溶液の感度が不十分で一部定量が不可能であったイソキサチオン, アジンホスエチルを除く 54 種農薬中, 49 農薬で 70% 以上の回収率を示した。このうち 39 農薬が回収率 70~120% であった。エディフェンホス, ホサロン, ホスチアゼート, ホスメット, ピラクロホス, フェンスルホチオン, モノクロトホス, パミドチオン, アジンホスエチル, クマホスでは回収率 120% を超えるサンプルが見られたが, 精製前と比べると, マトリックスによる効果は軽減されたと考えられる。

なお, マトリックス効果の軽減には前述のとおりミニカラムカートリッジ精製を追加して行う方法が汎用されているが, 今回検討対象とした多数の農薬が一検体から同時に検出されることはほとんどないと考えられることから, 本法をスクリーニング法として実検体に適用するにあたっては, 初回スクリーニングにおいて検出された農薬の GPC 溶出画分のみを分取することでも, マトリックス効果はかなり軽減できるものと考えている。

## まとめ

農産物中残留有機リン系農薬 58 種の分析法を検討し, 以下の結果を得た。

1. 市販の農薬混合標準溶液を利用することで,

標準溶液調製の省力化が達成された。

2. FPD(P)-GC による検量線は, 58 種農薬いずれも 0.02~1.0 $\mu$ g/mL の範囲で良好な直線性を示した。

3. 試料 25g に対する検出限界は, 0.001~0.04 ppm, 定量限界は 0.004~0.1ppm であった。

4. 抽出液のクリーンアップに用いる GPC の移動相として, ジクロロメタンからアセトンへの変更を行った。

5. 抽出溶媒としてアセトン・酢酸エチル・n-ヘキサン混液を用いる独自法と, アセトニトリルを用いる通知改良法をほうれんそうへの添加回収実験で比較した結果, 有意な差は見られなかった。この結果に加え, アセトニトリルの入手が困難なことを考慮し, 抽出にはアセトン・酢酸エチル・n-ヘキサン混合溶媒を用いる独自法を採用した。

6. 代表的な 5 農産物(ほうれんそう, キャベツ, ばれいしょ, オレンジ, りんご)を用いて添加回収実験を行ったところ, 58 農薬中 52 農薬で 70% 以上の良好な回収率であり, 独自法は有機リン系農薬のスクリーニング法として有用な方法であることがわかった。

7. 添加回収実験の試験溶液の一部を GC/NH<sub>2</sub> 積層ミニカラムを用いて, 通液速度を 2mL/min に保ち精製を行い測定を行ったところ, 58 農薬中 49 農薬で 70% 以上の良好な回収率であり, このうち 39 農薬が 70~120% となった。また精製を行わなかった場合に比して, マトリックス効果による感度の上昇が抑えられたことがわかった。

今回は有機リン系農薬について FPD(P)-GC を用いて検討を行ったが, GC/MS, LC/MS/MS 等の機器を用いてさらに様々な農薬の一斉分析法の検討を行う必要がある。

## 文献

- 1) 小川正彦, 坂井 亨, 大熊和行, 佐藤 誠, 志村恭子, 森 善宣, 倉田英雄: ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) を用いた農産物中の残留農薬一斉分析, 三重県衛生研究所年報, No.41, 93-108 (1995)。
- 2) 小川正彦, 坂井 亨, 大熊和行, 佐藤 誠, 志村恭子: GPC 及び GC/MS-SIM を用いた農産物中残留農薬の迅速一斉分析(第 2 報), 三重県衛生研究所年報, No.42, 83-94(1996)。
- 3) 坂井 亨, 小川正彦, 大熊和行, 佐藤 誠, 志村恭子: GC/MS-SIM 及び PDA-HPLC を用いた農産物中残留農薬の迅速系統分析,

三重県衛生研究所年報 , No.42 , 95-110  
(1996) .

- 4) 大熊和行 ,阪本晶子 ,小川正彦 ,別所敬子 ,  
佐藤 誠 ,志村恭子 :脱水抽出法を応用し  
た牛乳中残留有機塩素系農薬の簡易迅速  
分析法 ,三重県衛生研究所年報( 衛生部門) ,

No.44 , 37-42(1999) .

- 5) 大垣有紀 ,川合啓之 ,林 克弘 ,林崎由美  
子 ,山中葉子 ,志村恭子 :加工食品中残留  
有機リン系農薬の一斉分析法の検討 ,三重  
県保健環境研究所年報 ,No.53 ,25-30 (2008) .