農作物中9種フェノキシ酸系除草剤分析のためのメチル化及びペンタフルオロベンジル化の比較

平原嘉親,^a 宮田昌弘,^a 鎌倉和政,^a 渡辺芳則,^a

武田 寿,^b 前田憲二,^b 外海泰秀,^{*,c}

神戸検疫所輸入食品検疫・検査センター,^a 横浜検疫所輸入食品検疫・検査センター,^b 国立衛生試験所大阪支所^c

Comparison between Methyl and Pentafluorobenzyl Esterification for Analysis of 9 Phenoxy Acid Herbicides in Agricultural Products

Yoshichika HIRAHARA,^a Masahiro MIYATA,^a Kazumasa KAMAKURA,^a Yoshinori WATANABE,^a
Hisashi TAKEDA,^b Kenji MAEDA,^b and Yasuhide TONOGAI,^{*,c}

Kobe Quarantine Station, Center for Inspection of Imported Foods and Infectious Diseases,^a 1-1 Toyahama-cho, Hyogo-ku, Kobe 652, Japan, Yokohama Quarantine Station, Center for Inspection of Imported Foods and Infectious Diseases,^b 107-8 Nagahama, Kanazawa-ku, Yokohama 236, Japan and National Institute of Health Sciences, Osaka Branch,^c 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka 540, Japan

(Received August 12, 1996)

Ester types (2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ethyl, 2,4-D butyl and MCPA-thioethyl) and free acid types (2,4-D, 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T), 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCPA), *m*-chloroperbenzoic acid (MCPB), mecoprop and dichlorprop) of phenoxy acid herbicides in agricultural products were simultaneously extracted from samples with acetone for vegetables/fruits, and with acetonitrile for cereals/beans, and then re-extracted with ethyl acetate.

Three ester types of herbicides extracted from the samples were cleaned up by Sep-Pak[®] Florisil, and then determined by ECD-GC and GC-MS (SIM). Recoveries of the ester types of herbicides determined by GC and GC-MS spiked at 1.25 ppm to asparagus, taro, brown rice and corn were 61.4–76.9% and 50.8–63.9%, respectively.

Six free acid types of herbicides were esterified by pentafluorobenzyl bromide or diazomethane and determined by GC-MS (SIM) without cleaning up by solid phase extraction. Recoveries of the free acid types of herbicides esterified by pentafluorobenzylation and methylation spiked at 1.25 ppm to the samples were 68.5–98.5% and 53.7–88.1%, respectively.

It was clarified that the concentration of pentafluorobenzyl bromide in acetone should be 5–10% to have sufficient recoveries for the esterification. Methylation was superior to pentafluorobenzylation for the simplicity of manipulation, but was inferior for the sensitivity of GC and GC-MS.

Key words — pesticide; phenoxy acid herbicide; Sep-Pak[®] Florisil; gas chromatography; gas chromatograph/mass spectrometer; selected ion monitor (SIM)

緒 言

フェノキシ酸系農薬は水田・畑地等の除草剤として広く使用されており、2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), ジクロロプロップ, 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T), 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCPA), *m*-chlorobenzoic acid (MCPB), メコプロップ等の遊離カルボン酸を持つものと、それらの塩及び2,4-Dのエチル, プチルエステルやMCPAのチオエチルエステル(フェノチオール)等のエステル体がある。

現在環境庁の登録保留基準¹⁾では2,4-Dエチル, 2,4-Dジメチルアミン, 2,4-Dナトリウムは米に2,4-Dとして0.2 ppm, MCPAナトリウムは米, 麦, 雑穀, 芋類に0.1 ppm, MCPBエチルは米に0.1 ppm, 果実に0.2 ppm, ジクロロプロップは果実に3 ppmと定められている。また厚生省の農作物中農薬の残留基準では2,4,5-Tは各種農作物について検出されてはならないと定められている。

一方, 米国では2,4-Dは除草剤としてのほかに, レモン等柑橘類の収穫後の品質保持を目的として, いわゆるポストハーベスト農薬としての使用が認められており,²⁾ 残留基準は柑橘類について5 ppmと定められている。平成2年頃, 米国より日本へ輸入されたレモンから2,4-Dやイマザリルが検出され, 話題になった。

フェノキシ酸系除草剤の多成分分析は主として水や土壌試料についての報告³⁻⁶⁾が多く, 農作物についての報告^{6,7)}は比較的少ない。測定法としては高速液体クロマトグラフィー(HPLC)⁸⁻¹⁰⁾が多く, ついでガスクロマトグラフィー(GC)¹¹⁻¹³⁾があり, ガスクロマトグラフ-質量分析計(GC-MS)^{14,15)}や液体クロマトグラフ-質量分析計(LC-MS)^{16,17)}で測定した報告も見られる。

フェノキシ酸系農薬のGC分析では, 遊離酸型のもは不揮発性であるため, 何らかのエステル化体にする必要がある。エステル化にはメチルエステル,^{4,18)} *n*-ブチルエステル,^{4,19)} ペンタフルオロベンジルエステル,^{13,20,21)} 2,2,2-トリフルオロエチルエステル²²⁾などが報告されている。

本報告ではFig. 1に示した遊離酸型及びエステル型フェノキシ酸系9種除草剤の同時抽出並びに一斉分析法の設定を目的とした。遊離酸型はジアゾメタンによるメチルエステル化並びにペンタフルオロベンジル化(PBF化)について比較し, エステル化後選択イオン検出(SIM)法によるGC-MSで直接測定する方法について検討した。またエステル型については, ECD-GCとGC-MS(SIM)法を比較検討した。

実験の部

1. 試料 オーストラリア産のアスパラガス,

Fig. 1. Chemical Structures of Phenoxy Herbicides

中国産のさといも、U.S.A.産のとうもろこし及びうるち玄米を用いた。

2. 試薬及び試液 農薬標準品：2,4-D, MCPA は和光純薬工業（株）製，2,4,5-T, ジクロロプロップ，MCPB, メコプロップ，2,4-D エチル，2,4-D ブチル，MCPA-チオエチル（フェノチオール）は林純薬工業（株）製を用いた。

農薬標準混合溶液：エステル型フェノキシ酸系農薬混液 A（2,4-D エチル，2,4-D ブチル，MCPA-チオエチル）及び遊離酸型フェノキシ酸系農薬混液 B（2,4-D, 2,4,5-T, ジクロロプロップ，MCPA, MCPB, メコプロップ）をそれぞれ 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度になるようにアセトンで調製した。

塩酸，炭酸カリウム，水酸化カリウム：和光純薬工業（株）製，特級。

臭化ペンタフルオロベンジル：関東化学（株）製。

N-メチル-N-ニトロソ尿素：ナカライテスク（株）製。

PBF 試液：臭化ペンタフルオロベンジルのアセトン溶液（10% w/v）を作製した。

ジアゾメタン試液：N-メチル-N-ニトロソ尿素 3 g 及び 40% 水酸化カリウム溶液 9 ml をジエチルエーテル 30 ml に冷却下で混和して作製した。

アセトン，ジエチルエーテル，*n*-ヘキサン，酢酸エチル，アセトニトリル：和光純薬工業（株）製，残留農薬試験用。

Sep-Pak[®]フロリジル：Waters 社製，プラス型。

3. 装置及び測定条件 ガスクロマトグラフ：ヒューレットパッカード社製，5890 II，電子捕獲型検出器（ECD）付き。

GC 条件——カラム：DB-1701，J & W Scientific 社製，（内径 0.25 mm，長さ 30 m，膜厚 0.25 μm ），カラム温度：60°C（2 min）—250°C（5°C/min），注入口及び検出器温度：250°C 及び 280°C，注入量：2 μl （スプリットレス），キャリアーガス及びメイクアップガス：ヘリウム。

GC-MS：ヒューレットパッカード社製，5971 Series II。

GC-MS 条件——カラム：DB-1701，J & W Scientific 社製（内径 0.25 mm，長さ 30 m，膜厚 0.25 μm ），カラム温度：60°C（2 min）—250°C（20°C/min），注入口及びイオン源温度：250°C，インターフェース温度：280°C，イオン化電圧：70 eV，イオン化方法：電子衝撃（EI）法，スキャン範囲：50—600 m/z ，注入量：2 μl （スプリットレス），キャリアーガス及びメイクアップガス：ヘリウム。

4. 分析操作法

1) 試料液の調製——アスパラガス，さといも：細切してミキサーで均一化した試料 20 g をブレンダーカップにとり，6 N 塩酸 5 ml 及びアセトン 80 ml を加え，3 分間ホモジナイズし，No. 5A のろ紙を用いてろ過した。残留物にアセトン 80 ml を加え同様に抽出し，アセトン抽出液を合わせ，減圧濃縮して約 20 ml とした。これに，飽和食塩水及び酢酸エチルをそれぞれ 100 ml 加え 5 分間振り混ぜた後，有機層を分取した。水層に酢酸エチル 100 ml を加え，同様の操作を繰り返した。有機層を合わせ無水硫酸ナトリウムで脱水後，減圧下で溶媒を留去した。残留物をアセトン 5 ml に溶解し，試料液とした。

とうもろこし，玄米：420 μm の標準網ふるいを通るように粉碎した試料 20 g をブレンダーカップにとり，水 40 ml を加え，2 時間放置した後，6 N 塩酸 5 ml 及びアセトニトリル 80 ml を加え，3 分間ホモジナイズし，No. 5A のろ紙を用いてろ過した。残留物にアセトニトリル 80 ml を加え同様に抽出した。アセトニトリル抽出液を合わせ，アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 30 ml を加え 5 分間振り混ぜた後，アセトニトリル層を分取した。次に減圧濃縮し，約 20 ml とした。これに，飽和食塩水及び酢酸エチルをそれぞれ 100 ml 加え 5 分間振り混ぜた後，有機層を分取した。水層に酢酸エチル 100 ml を加え，同様の操作を繰り返した。有機層を合わせ無水硫酸ナトリウムで脱水後，減圧下で溶媒を留去した。残留物をアセトン 5 ml に溶解し，試料液とした。

2) フェノキシ酸系 A（エステル型）農薬のクリーンアップ——1) で調製した試料液の 1 ml をとり，窒素ガス気流下で溶媒を留去した後，*n*-ヘキサン 2 ml に溶解し，Sep-Pak[®]フロリジルカートリッジに負荷した。ついで *n*-ヘキサン 5 ml で洗浄した後，10% 酢酸エチル含有 *n*-ヘキサン（EA/H）5 ml で溶出した。溶出液を濃縮し，アセトンで 1 ml とし，GC または GC-MS 用の試験溶液とした。

3) フェノキシ酸系 B（遊離酸型）農薬のエステル化

3-1) PFB 化：1) で調製した試料液の 2 ml をとり，窒素ガス気流下で溶媒を留去した後，30% 炭酸カリウム溶液 0.1 ml 及び PBF 試液 1 ml を加え，密栓後，50°C の水浴中で 1 時間加熱した。これに飽和食塩水 2 ml 及び *n*-ヘキサン 2 ml を加え，2 分間振り混ぜた後，*n*-ヘキサン層を分取した。水層に同様に *n*-ヘキサン 2 ml を加え，振り混ぜた後，*n*-ヘキサン抽出液を合わせた。窒素ガス気流下で溶媒を留去

した後、アセトンで2 ml とし、GC 及び GC-MS 用の PFB 化試験溶液とした。

3-2) メチル化: 1) で調製した試料液 2 ml をとり、窒素ガス気流下で溶媒を留去した後、ジアゾメタン試液 10 ml を加え、室温で 30 分間放置した。減圧下で溶媒を留去した後、アセトンで 2 ml とし、GC 及び GC-MS 用のメチル化試験溶液とした。

5. 定性、定量 4. で調製した試験溶液 2 μ l を GC または GC-MS に注入し、各種農薬を定性、定量した。フェノキシ酸系 B (遊離酸型) 農薬については、標品についてもエステル化した後、定性、定量に使用した。

結果及び考察

1. 抽出溶媒の検討

穀類、豆類は野菜、果実類に比べ脂肪分が多いため、野菜、果実類と同様にアセトンで抽出すると脂肪分が多く抽出されることから、水で膨潤させた後、アセトニトリルで抽出した。さらに、この抽出液をアセトニトリル飽和 *n*-ヘキサンで洗浄して脱脂を行った。登録保留基準の分析法では再抽出溶媒とし

てジクロロプロップ、MCPA、MCPB の項ではエーテルを、2, 4, 5-T の項では酢酸エチルを用いている。本報ではこれら農薬の同時抽出を目的としたので、エーテルと酢酸エチルによる各農薬の回収率を比較した。その結果、両溶媒に差はなく良好な回収率が得られたことから、再抽出溶媒としてはエーテルに比べて取り扱い易く、水分の混入も少ないと考えられる酢酸エチルを使用することとした。

2. フェノキシ酸系 A (エステル型) 農薬の試験法

2-1. ガスクロマトグラフィー キャピラリカラムを用いてフェノキシ酸系 A 農薬を ECD-GC で測定したところ、3 種のフェノキシ酸系 A 農薬は ECD-GC で感度、分離とも良好に測定できた。2, 4-D エチルと 2, 4-D ブチルは同等の感度であったが、MCPA-チオエチルはこれらの 2 倍以上の感度が得られた。この理由は分子中にチオエーテル基を含むため、ECD-GC における感度が増したためと考えられる。検出限界は前二者が 0.5 μ g/ml、後者が 0.25 μ g/ml であった。

2-2. 固相抽出カートリッジによるクリーンアップ 試料液を直接 GC で測定すると各農作物にお

Fig. 2. Gas Chromatograms of Asparagus Extract Spiked with Pesticides (Mixture A) before and after Solid Phase Extraction by ECD-GC

いて試料由来の妨害ピークが多く認められ、目的農薬の保持時間と重なるため、クリーンアップが必要であった。そこで、Sep-Pak[®]フロリジルカートリッジを用い、溶出条件の検討を行ったところ、A 農薬は *n*-ヘキサン負荷液及び 5 ml の *n*-ヘキサン洗浄液では溶出せず、EA/H で全て溶出した。この結果から、A 農薬のクリーンアップは *n*-ヘキサンでカートリッジに負荷した後、5 ml の *n*-ヘキサンで洗浄し、10% EA/H 5 ml で溶出することとした。

各農作物の試料液に農薬を 1.25 ppm となるように添加し、フロリジルカートリッジでクリーンアップし、ECD-GC で測定した結果、試料由来の妨害ピークは除去され、良好に測定することができた。また各農作物に農薬を添加したときも同様であった。アスパラガスについてのガスクロマトグラムを Fig. 2 に示した。

2-3. GC 及び GC-MS (SIM) による測定 フェノキシ酸系 A 農薬を GC-MS の全イオン検出 (TIC) 法で測定したところ、良好な分離と感度が得られた。またこれらのマススペクトルでは、各農薬の分子イオンピークを認めた。2,4-D エチルは m/z 248、2,4-D ブチルは m/z 276、MCPA-チオエチルは m/z 244 の分子イオンピークをモニタリーオンとして SIM 法で各農薬を測定した結果、良好な分離及び感度が得られた。

2-4. 添加回収試験 フェノキシ酸系 A 農薬を各農作物に 1.25 ppm となるように添加し、GC 及び GC-MS (SIM) で測定して添加回収率を求め、その結果を Table 1 に示した。またアスパラガスについての GC-MS (SIM) によるクロマトグラムを Fig. 3 に示した。すべての農作物において農薬の保持時間に試料由来の妨害ピークは重ならず、良好に測定することができた。

各農作物における添加回収率は GC では 61.4–76.9%、また GC-MS (SIM) では 50.8–63.9% で

あった。GC に比べ GC-MS で測定した添加回収率は約 10% 低かったが、GC-MS ではピークとして表われない共存物の影響を受けることも少なく、感度の変動も小さいので、より信頼できる値と考えられる。また、各農作物間、各農薬間で回収率に大きな差は認められなかった。

Fig. 3. TIC and Mass Chromatograms of Asparagus Extract Spiked with Pesticides (Mixture A)

Table 1. Recoveries of Phenoxy Acid Herbicides (Mixture A) from Spiked Agricultural Products by ECD-GC and GC-MS (SIM)

Pesticide ^{a)} (mixture A)		Recovery (% , mean $\pm$ S.D., $n=8$)			
		Asparagus	Taro	Brown rice	Corn
2,4-D ethyl	ECD-GC	69.0 $\pm$ 2.3	61.4 $\pm$ 3.1	74.2 $\pm$ 3.2	64.3 $\pm$ 2.2
	GC-MS (SIM)	55.2 $\pm$ 3.1	50.8 $\pm$ 2.5	61.4 $\pm$ 2.8	57.5 $\pm$ 2.6
MCPA-thioethyl	ECD-GC	71.8 $\pm$ 1.8	65.8 $\pm$ 1.8	69.8 $\pm$ 2.7	67.2 $\pm$ 1.5
	GC-MS (SIM)	56.8 $\pm$ 2.6	55.7 $\pm$ 2.3	52.3 $\pm$ 1.7	56.2 $\pm$ 2.8
2,4-D butyl	ECD-GC	76.9 $\pm$ 2.2	67.4 $\pm$ 1.9	72.4 $\pm$ 2.3	68.0 $\pm$ 2.3
	GC-MS (SIM)	61.2 $\pm$ 3.5	57.1 $\pm$ 1.6	63.9 $\pm$ 2.9	63.4 $\pm$ 3.4

a) Twenty five μ g of phenoxy acid herbicides (mixture A) were spiked to 20 g of each agricultural products.

3. フェノキシ酸系 B (遊離酸型) 農薬の試験法

3-1. GC 条件の検討 フェノキシ酸系 B 農薬の誘導体化には登録保留基準の MCPA, MCPB 分析法に使用されている臭化ペンタフルオロベンジルを用いる PFB 化と各種化合物の分析に利用されているジアゾメタンを用いるメチル化の 2 種のエステル化について検討した。

PFB 化した各農薬を ECD-GC で測定した結果、フェノキシ酸系 B 農薬のすべてを検出することができた。しかしメチル化の場合、2,4-D、2,4,5-T 及びジクロロプロップのピークは検出できなかった。MCPA、MCPB 及びメコプロップのピークは検出できなかった。2,4-D、2,4,5-T 及びジクロロプロップは分子中に塩素原子を 2-3 個持つが、MCPA、MCPB 及びメコプロップは 1 個しか持たないため、ECD-GC での感度の低いことが原因と考えられる。一方、PFB 化ではフッ素原子を 5 個導入することにより、すべての農薬がメチル化に比べ、ECD-GC で高感度に検出された。

Fig. 4. TIC for Pentafluorobenzyl Derivatives of Phenoxy Acid Herbicides (Mixture B: 5.0 µg/ml)

しかし、PFB 化の試薬ブランクピークはメチル化のそれに比べ大きかった。さらに、この試薬ブランクピークは Sep-Pak[®] フロリジルカートリッジで精製しても除去できなかった。このことから、PFB 体を GC で測定する場合、0.5 µg/ml 以下では試薬ブランクピークと重なり定量が困難であった。

3-2. GC-MS 条件の検討 前述した理由により、これらすべての農薬を感度良く一斉に測定するためには GC-MS で測定することが好ましい。PFB 化並びにメチル化した各農薬標準溶液の TIC を Fig. 4, 5 に示した。

PFB 化体の TIC では MCPA とジクロロプロップ及び MCPB と 2,4,5-T の保持時間が重なったが、メチル化体では重ならなかった。また、両エステル化体の検出感度を比較すると、メコプロップ、MCPA 及び 2,4-D では両エステル化体の間に差はなかったが、ジクロロプロップ、MCPB の PFB 化体の感度はメチル化体に比べそれぞれ約 10 倍と約

Fig. 5. TIC for Methyl Derivatives of Phenoxy Acid Herbicides (Mixture B: 5.0 µg/ml)

Table 2. Mass Fragment Ions Formed from Derivatives of Phenoxy Acid Herbicides (Mixture B) by EI-GC-MS

Pesticide (mixture B)	Fragment ions						
	PFB derivative			Methyl derivative			
Mecoprop	169,	268,	394	142,	169,	228,	231
MCPA	201,	257,	287,	141,	142,	155,	214
Dichlorprop	133,	189,	414	162,	164,	189,	249
2,4-D	111,	175,	402	199,	175,	234,	236
MCPB	267,	287,	322,	101,	142,	211,	242
2,4,5-T	109,	145,	209,	233,	209,	268,	270

Underline means molecular ion.

5倍高かった。しかし、2,4,5-Tは逆に、メチル化体の方が約2倍感度が高かった。

次に、エステル化した農薬のGC-MS (EI) によるマススペクトルを測定し、主なフラグメントイオンをTable 2に示した。

PFB化体のマススペクトルでは各農薬の分子量にペンタフルオロベンジルの分子量181を加えた分子イオンピークが得られた。また、メチル化体では、各農薬の分子量にメチル基の分子量14を加えた分子イオンピークが得られた。これらの結果から、各分子イオンピークをモニターイオンとしてSIM法で測定を行った。ただし、2,4,5-Tのメチル化体は分子イオンを用いて試料溶液を測定したとき食品由来の妨害ピークと重なったため、妨害物と重ならない基準ピークの m/z 233をモニターイオンとして用いた。

SIM法で測定したときのメチル化体の感度はPFB化体の感度に比べ、ジクロロプロップでは約1/2であったが、メコプロップ、MCPA、MCPB及び2,4,5-Tでは約5倍高かった。また、2,4-Dでは約2倍高かった。

3-3. エステル化条件の検討 フェノキシ酸系B農薬のPFB化に要する臭化ペンタフルオロベンジルのアセトン溶液濃度について検討した。すなわち、各農作物試料液に農薬を添加した後、1, 5, 10%のPBF試液を用いてエステル化を行い、それぞれの添加回収率を求めた。その結果をFig. 6に示した。

1% PBF試液ではアスパラガス、さといも及びとうもろこしの回収率は32.0—59.2%であり、玄米では2.7—11.0%であった。5%及び10% PBF試液ではすべての農作物で71.6%以上の回収率が得られた。このことから、PFB試液は登録保留基準分析法にある1%では本法の場合不十分であり、5%以上が必要であると判明した。そこで、エステル化には10% PBF試液を用いることとした。また、メチル化はジアゾメタン試液を用いて常法によりエステル化を行なった。

3-4. エステル化体のクリーンアップ PFB化及びメチル化後の試験溶液をECD-GCで測定したところ、試料由来の妨害物質が多く認められたためクリーンアップが必要であった。Sep-Pak[®]フロリジルカートリッジにエステル化した各農薬標準品の n -ヘキサン溶液を負荷し、5—30% EA/Hで溶出して、各農薬の溶出パターンを調べた。

PFB化体はカートリッジから負荷液である n -ヘキサンによっても30%程度溶出され、20% EA/Hではほぼすべて溶出された。一方、メチル化体はヘキサン負荷液では溶出されず、10% EA/Hではほぼすべて溶出された。この結果から、メチル化体はカートリッジに負荷後、10% EA/Hで溶出することによりクリーンアップできるが、PFB化体はクリーンアップできないことが分った。したがって、フェノキシ酸系B農薬についてはエステル化後クリーンアップすることなく、GC-MS (SIM) で直接測定することを検討した。

Fig. 6. Effect of Concentration of Pentafluorobenzylbromide on Recoveries of Phenoxy Acid Herbicides (Mixture B) from Asparagus

PFB/A (%): Pentafluorobenzylbromide/Acetone (%). Twenty five μ g of phenoxy acid herbicides (mixture B) were spiked to 20 g of asparagus.

3-5. GC-MS (SIM) による抽出液中農薬の測定
フェノキシ酸系 B 農薬を各農作物に添加して調製した試料液を PFB 化またはメチル化した後, SIM で直接測定した. アスパラガスについてのマスプロトグラムを Fig. 7 及び 8 に示した. また各農作物における添加回収率を Table 3 に示した.

アスパラガス試料液を PFB 化またはメチル化後 SIM で測定した結果, カートリッジでクリーンアップしなくても目的農薬のピークと試料由来の妨害ピークは重ならず良好に測定することができた. また, さといも, 玄米, とうもろこしについても SIM ではカートリッジでクリーンアップすることなく良好に測定できることが分かった.

また Table 3 に示したように, PFB 化による添加

回収率は, 全ての農薬で 68.5% 以上であった. メチル化による添加回収率は玄米及びとうもろこしではアスパラガス及びさといもに比べやや低い傾向にあったが, 全ての農薬で 53.7% 以上であった. この理由は PFB 化が加温 1 時間反応であるのに対してメチル化は室温放置反応なので, 試料液のエステル化には PFB 化の方がより強力に作用するためと考えられる.

4. PFB 及びメチル化の比較

上記の実験結果から, PFB 化及びメチル化の長所及び短所について比較し, 考察を行った.

4-1. エステル化の操作法 PFB 化では, 50°C の水浴中で 1 時間反応させる必要があったが, メチル化の場合は室温 30 分放置でよかった. また, PFB

Fig. 7. TIC and Mass Chromatograms of Pentafluorobenzyl Derivatives (Mixture B) Extracted from Asparagus

Fig. 8. TIC and Mass Chromatograms of Methyl Derivatives (Mixture B) Extracted from Asparagus

化後には *n*-ヘキサンに転溶する操作が必要であったが、メチル化の場合は必要なかった。また、PFB化試薬の臭化ペンタフルオロベンジルは催涙性を有し、メチル化試薬のジアゾメタン試液は有害性及び爆発性があるために両者ともドラフト中で操作する必要があった。

4-2. ECD-GC における感度 PFB 化体では対象とした 6 種類の農薬全てを検出することができたが、メチル化体では MCPA、MCPB 及びメコプロップは検出できなかった。試薬ブランクピークは PFB 化ではメチル化に比べ多く認められ、PFB 化では、 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の農薬を ECD-GC で測定するのは困難であった。

4-3. GC-MS (SIM) における感度 エステル化後の各農薬の SIM 測定時の感度を比較した結果、MCPA、メコプロップ及び 2,4-D の感度は PFB 化体及びメチル化体間に差はなかったが、ジクロロプロップ、MCPB の PFB 化体はメチル化体に比べ、それぞれ約 10 倍と約 5 倍感度が高かった。しかし、2,4,5-T は、メチル化体の方が約 2 倍高かった。

また、SIM で測定に用いたイオンは PFB 化体では m/z 380–430 であり、メチル化体の m/z 210–270 に比べ大きかった。このことから、PFB 化体ではメチル化体に比べ他の農薬や試料由来の妨害ピークと重なる可能性がより低かった。

Table 3. Recoveries of Phenoxy Acid Herbicides (Mixture B) from Spiked Agricultural Products by GC-MS (SIM)

Pesticide ^{a)} (mixture B)	Derivative	Recovery (% , mean±S.D., n=5)			
		Asparagus	Taro	Brown rice	Corn
Mecoprop	PFB	94.5±2.3	91.7±2.4	71.7±1.4	82.7±2.7
	Methyl	86.7±1.8	88.1±1.2	75.7±2.3	78.1±2.2
MCPA	PFB	92.2±2.4	85.7±2.9	92.5±1.3	93.6±2.9
	Methyl	69.5±3.2	76.1±3.1	69.4±2.8	70.6±3.2
Dichlorprop	PFB	95.0±1.2	84.2±1.8	86.1±2.3	88.5±2.6
	Methyl	66.2±2.1	78.2±2.5	66.8±2.8	75.0±1.7
2,4-D	PFB	89.3±1.9	83.4±3.4	86.9±3.2	90.1±3.0
	Methyl	60.6±2.3	67.7±2.6	56.9±2.4	59.7±2.4
MCPB	PFB	69.4±2.9	68.5±1.9	97.5±2.0	98.5±1.2
	Methyl	58.9±1.5	62.6±2.5	54.7±3.1	57.6±2.6
2,4,5-T	PFB	87.5±2.6	80.0±2.9	75.1±1.9	69.1±1.4
	Methyl	53.7±2.1	60.9±1.8	54.0±2.3	53.7±1.9

a) Twenty five µg of phenoxy acid herbicides (mixture B) were spiked to 20 g of each agricultural products.

5. 残留実態調査

オーストラリア産のアスパラガス、中国産のさといも及び U.S.A. 産の玄米、とうもろこしについて遊離酸型及びエステル型フェノキシ酸系 9 種農薬を測定した結果、これらの検体からはいずれの農薬も検出されなかった。なお、本法による各農薬の検出限界はエステル型フェノキシ酸系 A 農薬は ECD-GC で 0.1 ppm, GC-MS (SIM) で 0.05 ppm また遊離酸型フェノキシ酸系 B 農薬の GC-MS (SIM) では 0.05 ppm であった。

ま と め

1. 農作物中の遊離酸型及びエステル型フェノキシ酸系 9 種除草剤の同時抽出並びに GC または GC-MS による一斉分析法を作成した。

2. 遊離酸型のエステル化法として PFB 化とメチル化について比較検討した結果、操作性においてはメチル化が、GC 及び GC-MS の感度においては

PFB 化が優れていた。

3. PFB 試液によるエステル化条件を検討した結果、PFB 試液濃度は、登録保留基準の分析法にある 1% では本法の場合不十分で回収率が低く、5—10%が必要であった。

4. エステル型は試料液をクリーンアップ後 ECD-GC と GC-MS (SIM) で測定し、遊離酸型はエステル化後クリーンアップせずに GC-MS (SIM) で測定した。いずれの方法でもアスパラガス、さといも、玄米、とうもろこしについて、妨害物の影響なく測定することができた。

5. 4 種農作物に各農薬を 1.25 ppm 添加したときの本法による回収率は、エステル型は 50.8—76.9%、遊離酸型は 53.7—98.5%であった。

謝辞 本研究を行うにあたり種々ご協力いただいた、横浜及び神戸検疫所輸入食品検疫・検査センターの諸氏に深謝致します。

References

- 1) Research Society for Countermeasure, of Environmental Integrity of Pesticides "Standard for Withholding Registration of Pesticides-Handbook for Standard of Residual Pesticides," Kagakukogyonippo Inc., Tokyo, 1995, pp.1085—1098.
- 2) Japanese Descendant Foundation (ed.), "Post-Harvest Application Pesticides-Surveillance Report for U.S.A.," Tokyo, 1989, p.122.
- 3) Suzuki T., Watanabe S., *J. AOAC Int.*, **75**, 720 (1992).
- 4) Butz S., Stan H.J., *J. Chromatogr.*, **643**, 227 (1993).
- 5) Balinova A., *J. Chromatogr.*, **728**, 319 (1996).
- 6) Sanchez-Brunete C., Garcia-Valcarcel A.I., Tadeo J.L., *J. Chromatogr.*, **675**, 213 (1994).

- 7) Hajslova J., Tahtah W.H., Jehlickova Z., Kocourek V., Cuhra P., *Sci. Total Environ.*, **132**, 259 (1993).
- 8) Balinova A., *J. Chromatogr.*, **643**, 203 (1993).
- 9) Nouri B., Fouillet B., Toussaint G., Chambon P., Chambon R., *Analyst*, **120**, 1133 (1995).
- 10) Gennaro M., Giacosa D., Baglietto C., Gennari M., Negre M., *J. Liq. Chromatogr.*, **19**, 911 (1996).
- 11) Edgell K.W., Feb E.J., Wesselman R.J., Longbottom J.E., *J. AOAC Int.*, **76**, 1098 (1993).
- 12) Albanis T.A., Hela D.G., *J. Chromatogr.*, **707**, 283 (1995).
- 13) Vink M., van der Poll J.M., *J. Chromatogr.*, **733**, 361 (1996).
- 14) Tsuchiya Y., *Kogyo Yosui*, **409**, 50 (1992).
- 15) Ternes T.A., Baumann W., Nagel I.R., *Fresenius, J. Anal. Chem.*, **354**, 237 (1996).
- 16) Volmer D., Levsen K., Wuensch G., *J. Chromatogr.*, **660**, 231 (1994).
- 17) Crrescenzi C., Di C.A., Marchese S., Samperi R., *Anal. Chem.*, **67**, 1968 (1995).
- 18) Tonogai Y., Tsumura Y., Nakamura Y., Ito Y., *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, **33**, 23 (1992).
- 19) Research Team for Analysis of Residual Pesticides (ed.), "New Residual Analytical Method for Pesticides," Chuohoki Public. Inc., Tokyo, 1995, pp.21, 248.
- 20) Research Team for Analysis of Residual Pesticides (ed.), "New Residual Analytical for Pesticides," Chuohoki Public. Inc., Tokyo, 1995, pp.396, 399.
- 21) Meeiring H.D., den Engelsman G., de Jong A.P.J.M., *J. Chromatogr.*, **644**, 357 (1993).
- 22) Lee A.S., Hong M.K., Smith A.E., *J. AOAC Int.*, **78**, 1459 (1995).