調査・資料

1997 年告示 10 農薬への残留農薬迅速分析通知法の適用

(平成 10 年 7 月 21 日受理)

佐々木久美子*¹ 中村優美子*² 二宮隆博*³
田中敏嗣*⁴ 豊田正武*¹Application of the Bulletin Method for Rapid Analysis of Pesticide Residues
on the Analysis of 10 Pesticides Notified in 1997Kumiko SASAKI*¹, Yumiko NAKAMURA*², Takahiro NINOMIYA*³, Toshitsugu TANAKA*⁴
and Masatake TOYODA*¹(*¹National Institute of Health Sciences: 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501,
Japan; *²National Institute of Health Sciences, Osaka Branch: 1-1-43, Hoenzaka,
Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; *³Japan Food Hygiene Association: 2-6-1,
Jingumae, Shibuya-ku, Tokyo 150-0001, Japan; *⁴Kobe Institute of Health:
4-6, Minatojima-nakamachi, Chuo-ku, Kobe 650-0046, Japan)**Key words:** 残留農薬 pesticide residue; 迅速分析法 rapid analytical method; ゲル浸透クロマト
グラフィー gel permeation chromatography

緒 言

検査機関などにおける残留農薬分析業務の効率化のために、1997 年 4 月 8 日に残留農薬迅速分析法（衛化第 43 号及び 44 号、以下通知法と略記）が厚生省生活衛生局から各都道府県等に通知された^{1), 2)}。

通知が出された時点における残留基準値告示農薬への通知法の適用については既に報告されている^{3), 4)}。しかし、その後に基準値が設定された農薬への適用については報告されていない。1997 年 9 月に新たに基準値が告示された⁵⁾ 23 農薬のうち、GC で測定できる 10 農薬（EPTC、アクリナトリン、アセタミプリド、ジフェンゾコート、シプロコナゾール、テブコナゾール、ピリプロキシフェン、ピリミジフェン、ブチレート及びメトラクロール）への通知法の適用について、通知法作成に携わった迅速分析法検討会の 3 試験室が検討したので、その結果を報告する。

実験方法

1. 試 料

市販の玄米、ほうれんそう、キャベツ、ばれいしょ、りんご及びオレンジを使用した。

2. 試 薬

有機溶媒は市販の残留農薬試験用を用いた。そのほかは通知法^{1), 2)}に従った。

3. 農薬標準品

EPTC、アクリナトリン、アセタミプリド、ジフェンゾコート、シプロコナゾール、テブコナゾール、ピリプロキシフェン、ピリミジフェン、ブチレート及びメトラクロールは、市販の残留農薬試験用標準品を使用した。

4. 試験溶液の調製法

通知法^{1), 2)}に従った。すなわち、試料 20 g（玄米は 10 g に水 20 mL を加えて 2 時間放置）にアセトン 100 mL を加えて細砕し、吸引ろ過した残さをアセトン 50 mL で洗った。アセトン抽出液を 20 mL 以下に濃縮した後、塩化ナトリウム 6 g を加えてケイソウ土カラムに負荷した。10 分間放置した後、酢酸エチル 150 mL でカラムから溶出し、溶出液を濃縮して溶媒を除去した。残留物を酢酸エチル-シクロヘキサノール (1:1) に溶解した後、その 1/2 量をゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) で精製した。溶出溶媒には酢酸エチル-シクロヘ

*¹ 国立医薬品食品衛生研究所: 〒158-8501 東京都世田谷区上野 1-18-1

*² 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

*³ 日本食品衛生協会: 〒150-0001 東京都渋谷区神宮前 2-6-1

*⁴ 神戸市環境保健研究所: 〒650-0046 神戸市中央区港島中町 4-6

Table 1. Recovery of 10 Pesticides through Each Analytical Procedure

Pesticide	Recovery (% , mean $\pm$ S.D., $n=3$)				
	SPE ¹⁾	GPC ²⁾	Silica ³⁾	Florisil frac. 1 ⁴⁾	Florisil frac. 2 ⁴⁾
EPTC	63.4 $\pm$ 0.4	86.6 $\pm$ 5.0	87.3 $\pm$ 2.4	70.3 $\pm$ 6.6	0
Acrinathrin	80.8 $\pm$ 4.8	24.0 $\pm$ 3.1	98.8 $\pm$ 6.9	82.9 $\pm$ 1.6	0
Acetamiprid	72.4 $\pm$ 11.6	91.6 $\pm$ 8.7	96.3 $\pm$ 4.2	0	52.0 $\pm$ 10.4
Difenoquat	2.0 $\pm$ 3.4	0	0	0	0
Cyproconazole	79.9 $\pm$ 6.7	95.8 $\pm$ 4.0	99.8 $\pm$ 8.1	0	96.1 $\pm$ 10.1
Tebuconazole	103.0 $\pm$ 15.0	94.4 $\pm$ 3.0	95.8 $\pm$ 3.7	0	96.7 $\pm$ 10.7
Pyriproxyfen	84.9 $\pm$ 5.5	90.8 $\pm$ 6.2	97.5 $\pm$ 5.0	85.1 $\pm$ 0.5	0
Pyrimidifen	86.7 $\pm$ 2.3	91.4 $\pm$ 4.2	98.7 $\pm$ 2.7	26.4 $\pm$ 2.3	59.5 $\pm$ 6.0
Butylate	69.0 $\pm$ 2.9	86.7 $\pm$ 4.9	99.2 $\pm$ 2.4	81.7 $\pm$ 6.8	0
Metolachlor	82.6 $\pm$ 7.3	95.3 $\pm$ 5.8	97.7 $\pm$ 3.7	19.4 $\pm$ 0.7	56.1 $\pm$ 5.9

¹⁾ Solid phase extraction: 5 μ g of pesticides were loaded on ChemElute 1020 and eluted with 150 mL of ethyl acetate.

²⁾ Gel permeation chromatography: 2.5 μ g of pesticides were loaded on the column and eluant (fraction of 70~140 mL) were collected.

³⁾ Sep-Pak plus Silica: 5 μ g of pesticides were loaded on the cartridge washed with 50% actone-hexane and eluted with 20 mL of 50% acetone-hexane.

⁴⁾ Sep-Pak plus Florisil: 5 μ g of pesticides were loaded on the cartridge washed with 15% diethyl ether-hexane and eluted with 18 mL of 15% diethyl ether-hexane (frac. 1) and followed with 15 mL of 15% acetone-hexane (frac. 2).

キサン (1:1) を使用し、農薬の溶出画分 (フルバリネートとキノメチオネートの溶出を指標としてあらかじめ定めた) を分取した。これを濃縮して溶媒を除去した後、残留物をアセトン-ヘキサン (1:1) 4 mL に溶解し、その 2 mL をシリカゲルカートリッジカラムに負荷した。アセトン-ヘキサン (1:1) 20 mL で溶出し、溶出液を濃縮して溶媒を除去した後、残留物をエーテル-ヘキサン (3:17) 4 mL に溶解した。その 2 mL をフロリジルカートリッジカラムに負荷し、エーテル-ヘキサン (3:17) 18 mL で溶出した。溶出液の溶媒を除去した後、残留物をヘキサンに溶解して 2 mL (玄米は 1 mL) とし、アクリナトリンの試験溶液とした。フロリジルカートリッジカラムに負荷した残りのエーテル-ヘキサン (3:17) 溶液の溶媒を除去した後、残留物をアセトンに溶解して 2 mL (玄米は 1 mL) とし、アクリナトリンを除く 9 農薬の試験溶液とした。

5. 測定

アクリナトリンの測定には GC-ECD を使用し、測定条件はアクリナトリン等告示試験法⁵⁾ に準じた。その他の 9 農薬の測定には GC-NPD 又は GC-FTD を使用し、測定条件はジフェノコナゾール等告示試験法⁶⁾ に準じた。

6. 添加回収試験

玄米、ほうれんそう、キャベツ、ばれいしょ、りんご及びオレンジの 6 作物に対して、3 試験室 (No. 1~3) でそれぞれ添加回収試験を実施した。作物の均一化試料に 10 農薬混合のアセトン溶液を添加し、30 分後に抽

出を開始して分析した。添加濃度は 0.2 μ g/g とした。ただし、試験室 2 では、ガスクロマトグラフ検出器の感度に応じて、EPTC、アセタミプリド及びブチレートを 0.1 μ g/g、ピリミジフェンを 0.4 μ g/g とした。

結果及び考察

1. 各操作過程における回収率

通知法^{1), 2)} の各操作過程での農薬の回収率を標準品を用いて検討した (Table 1)。ケイソウ土カラムに標準品のアセトン溶液を負荷し、酢酸エチル 150 mL で溶出したとき、ジフェンゾコートが回収されず、EPTC とブチレートの回収率がやや低かった。GPC では、通知法で農薬溶出画分の指標としているフルバリネートとキノメチオネートが溶出する画分について測定したところ、ジフェンゾコートは回収されず、その前後の画分からも検出されなかった。アクリナトリンはフルバリネートよりも速く溶出するために回収率が低かった。シリカゲルカートリッジカラムからはジフェンゾコート以外は定量的に回収された。アクリナトリン試験溶液の調製に使用するフロリジルカートリッジカラムからアクリナトリンは第 1 画分に 82.9% 溶出した。その他の農薬では EPTC、ピリプロキシフェン及びブチレートが第 1 画分に、アセタミプリド、シプロコナゾール及びテブコナゾールが第 2 画分に回収された。ピリミジフェンとメトラクロールは両画分にまたがって溶出し、ジフェンゾコートは全く回収されなかった。

2. 添加回収試験

玄米、ほうれんそう、キャベツ、ばれいしょ、りんご

Table 2. Recovery of 10 Pesticides from Spiked Crops¹⁾

Crops	Pesticides	Recovery (% , mean±S.D.)		
		Lab. 1 ²⁾	Lab. 2	Lab. 3
Brown rice	EPTC	49.3±4.1	80.4± 7.5	47.5± 4.4
	Acrinathrin	15.6±1.6	NT ³⁾	NT (68.3± 5.1) ⁴⁾
	Acetamiprid	114.3±7.3	107.2±18.3	106.6±10.0
	Difenoquat	0	NT	0
	Cyproconazole	79.6±6.9	106.1±15.8	91.3± 5.6
	Tebuconazole	84.5±5.4	102.0±14.5	91.8± 5.2
	Pyriproxyfen	111.3±7.1	111.2±14.6	85.9± 4.1
	Pyrimidifen	88.8±4.6	106.9±15.2	83.3± 3.0
	Butylate	53.4±4.6	92.0± 8.4	59.9± 4.0
	Metolachlor	70.4±5.3	99.3±17.7	94.6± 3.4
Spinach	EPTC	32.9±1.9	56.9± 1.4	27.2± 3.5
	Acrinathrin	13.8±3.4	NT	NT (83.5± 1.1)
	Acetamiprid	95.0±5.0	180.3± 5.4	124.4± 3.8
	Difenoquat	0	NT	0
	Cyproconazole	92.4±4.7	95.6± 3.8	90.5± 6.1
	Tebuconazole	93.1±6.3	92.1± 1.7	95.1± 5.8
	Pyriproxyfen	103.4±4.6	95.6± 0.7	86.3± 2.9
	Pyrimidifen	99.8±3.4	95.7± 4.0	84.8± 4.2
	Butylate	35.6±1.1	61.3± 1.6	27.2± 3.4
	Metolachlor	92.6±5.7	95.1± 3.2	90.0± 0.2
Cabbage	EPTC	18.0±0.2	63.8± 2.5	0
	Acrinathrin	0	NT	NT (79.5± 2.6)
	Acetamiprid	105.6±9.6	83.0± 9.8	119.4± 8.4
	Difenoquat	0	NT	0
	Cyproconazole	94.4±5.4	95.6± 1.8	79.1± 4.8
	Tebuconazole	94.3±8.7	89.6± 7.4	90.8± 4.9
	Pyriproxyfen	71.6±3.6	96.9± 1.9	88.7± 3.2
	Pyrimidifen	98.8±7.7	99.9± 3.4	83.9± 3.2
	Butylate	66.3±6.1	60.6± 0.6	NM ⁵⁾
	Metolachlor	89.6±2.9	97.7± 7.2	87.9± 1.1
Potato	EPTC	60.8±4.3	57.5± 1.4	31.3± 2.7
	Acrinathrin	18.1±1.0	NT	NT (83.5± 2.5)
	Acetamiprid	71.9±9.3	115.5± 2.4	122.8± 7.3
	Difenoquat	0	NT	0
	Cyproconazole	106.6±7.7	95.7± 1.9	89.8± 2.7
	Tebuconazole	100.7±4.1	93.6± 1.6	87.1± 3.1
	Pyriproxyfen	95.7±7.8	96.1± 1.4	91.5± 4.1
	Pyrimidifen	100.5±7.5	100.7± 3.0	83.3± 5.6
	Butylate	48.2±6.0	61.2± 0.5	32.4± 4.7
	Metolachlor	107.8±8.9	102.5± 3.9	94.9± 1.7

及びオレンジの6作物について添加回収試験を実施した結果をTable 2に示した。

シプロコナゾール、テブコナゾール及びピリプロキシフェンはいずれの作物でも通知法^{1), 2)}で要求されている回収率(70~120%)を満足する結果が得られた。

メトラクロールはオレンジで、ピリミジフェンはりんごとオレンジで回収率がやや低い試験室があったが、他

の作物では70~120%の回収率が得られた。

アセタミプリドは作物及び試験室によっては120%を超える回収率が得られ、測定時の共存成分の影響があったと考えられた。

EPTCとブチレートは、試験室による回収率のばらつきが大きく、また回収率が50%以下のものが多かった。これらの農薬は揮発性が高いため、濃縮操作による

Table 2. Continued

Crops	Pesticides	Recovery (% , mean $\pm$ S.D.)		
		Lab. 1 ²⁾	Lab. 2	Lab. 3
Apple	EPTC	26.4 $\pm$ 3.1	65.9 $\pm$ 2.3	47.3 $\pm$ 2.9
	Acrinathrin	26.4 $\pm$ 3.1	NT	NT (89.4 $\pm$ 3.7)
	Acetamiprid	85.8 $\pm$ 6.4	85.3 $\pm$ 4.5	104.7 $\pm$ 9.2
	Difenzoquat	0	NT	0
	Cyproconazole	76.1 $\pm$ 3.4	93.9 $\pm$ 3.6	85.5 $\pm$ 3.3
	Tebuconazole	74.8 $\pm$ 6.4	90.9 $\pm$ 3.6	82.5 $\pm$ 3.1
	Pyriproxyfen	81.6 $\pm$ 5.9	100.4 $\pm$ 2.6	77.0 $\pm$ 3.8
	Pyrimidifen	72.0 $\pm$ 5.9	85.3 $\pm$ 2.1	69.6 $\pm$ 2.8
	Butylate	22.2 $\pm$ 2.6	75.6 $\pm$ 2.4	47.7 $\pm$ 2.5
	Metolachlor	86.3 $\pm$ 6.2	98.0 $\pm$ 3.8	99.8 $\pm$ 6.0
Orange	EPTC	27.7 $\pm$ 2.9	52.6 $\pm$ 13.9	29.5 $\pm$ 2.5
	Acrinathrin	16.5 $\pm$ 1.5	NT	NT (58.3 $\pm$ 4.9)
	Acetamiprid	64.7 $\pm$ 4.7	93.3 $\pm$ 5.3	70.1 $\pm$ 0.6
	Difenzoquat	0	NT	0
	Cyproconazole	79.9 $\pm$ 5.9	97.3 $\pm$ 4.6	74.1 $\pm$ 1.6
	Tebuconazole	74.7 $\pm$ 7.1	94.5 $\pm$ 3.2	76.4 $\pm$ 0.6
	Pyriproxyfen	87.8 $\pm$ 5.4	102.9 $\pm$ 1.9	73.3 $\pm$ 3.4
	Pyrimidifen	76.1 $\pm$ 4.8	72.4 $\pm$ 9.4	57.1 $\pm$ 2.3
	Butylate	40.1 $\pm$ 3.0	63.7 $\pm$ 11.9	32.4 $\pm$ 1.8
	Metolachlor	65.4 $\pm$ 6.4	117.9 $\pm$ 5.1	74.7 $\pm$ 3.5

¹⁾ Spiking levels were 0.2 μ g/g except EPTC, acetamiprid and butylate (0.1 μ g/g) and pyrimidifen (0.4 μ g/g) in Lab. 2.

²⁾ Laboratory number

³⁾ NT: not tested

⁴⁾ Recovery when fraction volume in GPC was set for acrinathrin.

⁵⁾ NM: not measured because of interference

損失と考えられた。

アクリナトリンは GPC での溶出が速いためにいずれの作物でも回収率が低かった (試験室 1)。試験室 2 及び 3 では、アクリナトリンが GPC で速く溶出するため通知法^{1), 2)}での回収試験は実施しなかったが、通知法で規定した GPC の農薬溶出画分 (110~210 mL) より前の画分 (80~110 mL) を分取して分析した場合は、58.3~89.4% の高い回収率が得られた (試験室 3)。

ジフェンゾコートは標準品で検討した各操作過程の回収率からも予測されるとおり、作物から全く回収されなかった。

以上の結果から、1) アセタミプリド、シプロコナゾール、テブコナゾール、ピリプロキシフェン、ピリミジフェン及びメトラクロールには通知法^{1), 2)}が適用できること、2) EPTC とブチレートには、濃縮時に乾固しないよう注意したり、ジェチレングリコールなどのキーパーを使用することによって通知法を適用できる可能性があること、3) アクリナトリン及びジフェンゾコートには適用できないことが分かった。

なお、野菜・果実を試料とした場合の検出限界を

Table 3. Detection Limits of 10 Pesticides in Crops

Pesticide	Detection limit (μ g/g)		
	Lab. 1 ¹⁾	Lab. 2	Lab. 3
EPTC	0.008	0.02	0.01
Acrinathrin	0.002	0.05	0.01
Acetamiprid	0.4	0.04	0.01
Difenzoquat	0.08	—	0.05
Cyproconazole	0.08	0.10	0.005
Tebuconazole	0.08	0.07	0.005
Pyriproxyfen	0.04	0.05	0.01
Pyrimidifen	0.02	0.04	0.01
Butylate	0.04	0.04	0.01
Metolachlor	0.02	0.05	0.005

¹⁾ Laboratory number

Table 3 に示した。分析機器の性能及びカラム恒温槽の昇温条件などに起因すると考えられる試験室間の差があるが、残留基準値が特に低いシプロコナゾール (一部の作物で 0.01 μ g/g) 及びテブコナゾール (一部の作物で

0.05 $\mu\text{g/g}$) を除いては基準値の 1/2 以下の検出限界が得られた。

文 献

- 1) 厚生省生活衛生局長通知: “残留農薬迅速分析法の利用について” 平成 9 年 4 月 8 日, 衛化第 43 号 (1997).
- 2) 厚生省生活衛生局長通知: “残留農薬迅速分析法の利用について” 平成 9 年 4 月 8 日, 衛化第 44 号 (1997).
- 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) 残留農薬迅速分析法開発検討委員会: 食品衛生研究 47 (6), 27~41 (1997).
- 5) 厚生省告示第 179 号: 平成 9 年 9 月 1 日, 官報 (号外第 177 号) (1997).
- 6) 厚生省告示第 221 号: 平成 8 年 9 月 2 日, 官報 (号外第 198 号) (1996).