

I 調 查 研 究 報 告

短 報

冷凍アスパラガス中の有機リン系農薬分析における
固相カラムを用いた精製の検討

篠原秀幸, 真田拓生, 長岡由香, 中島克則

Study on purification using solid-phase column for analysis of
organophosphorus pesticides in frozen asparagus

Hydeyuki SHINOHARA, Takuo SANADA, Yuka NAGAOKA and Katsunori NAKAJIMA

有機リン系農薬を対象とした冷凍アスパラガスの検査において、炎光光度検出器付ガスクロマトグラフによる分析を行ったところ、アセフェートと同じ保持時間にピークが見られた。ガスクロマトグラフ（タンデム型）質量分析装置による定性分析の結果、これをアスパラガス酸であると同定した。前処理方法を種々検討したところ、精製工程にイオン交換作用をもつ固相カラムを用いることでアスパラガス酸を除くことができた。標準液を用いて精製操作における回収率を確認したところ、当所で一斉分析を実施している有機リン系農薬 31 項目中 28 項目で 70-120 % を満たす良好な結果であった。

キーワード： アスパラガス酸 Asparagusic acid, 有機リン系農薬 Organophosphorus pesticides
炎光光度検出器付ガスクロマトグラフ Gas Chromatograph / Flame Photometric Detector (GC/FPD)

I はじめに

当所では冷凍食品中の有機リン系農薬 31 項目の一斉分析を、平成 20 年 3 月 7 日付け事務連絡「食品中に残留する農薬メタミドホスに係る試験法について」に基づき、炎光光度検出器付ガスクロマトグラフ (GC/FPD) を用いて実施している。令和元年度実施した行政検査において冷凍アスパラガスを分析したところ、アセフェートの保持時間にピークが出現した。ガスクロマトグラフ（タンデム型）質量分析装置による再分析の結果、当該ピークはアスパラガ

ス酸由来と同定された (図 1)。アブラナ科をはじめ、硫黄化合物を含有する作物では、GC/FPD による有機リン系農薬の分析において硫黄化合物由来の妨害ピークが問題となることが知られている。

今回、アスパラガス酸の妨害を受けずに GC/FPD でアセフェートを検出することを目的とし、分析条件および固相カラムによる精製を検討したところ一定の知見が得られたので報告する。

II 実験方法

1 試料及び試薬

試料は令和元年度実施の検体である冷凍アスパラガスの残品を用いた。

標準品はアセフェート標準品、有機リン系混合農薬標準品 FA-1, FA-2, パラチオン標準品, パラチオンメチル標準品とし、全て富士フィルム和光純薬 (株)製の残留農薬試験用を用いた。

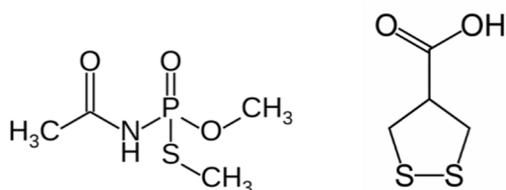


図 1 アセフェート(左)およびアスパラガス酸(右)の構造式

試薬はアセトン、酢酸エチル、無水硫酸ナトリウムは富士フィルム和光純薬(株)製残留農薬試験用を用いた。固相カラムはジーエルサイエンス社製 InertSep GC/PSA (500 mg/500 mg/6 mL) を用い、予め酢酸エチル 10 mL でコンディショニングを行い、試料を負荷した。

2 装置及び測定条件

表 1 に示した。

3 分析条件および固相カラムによる精製の検討

3.1 カラム昇温速度によるピーク分離の検討

試料を図 2 に従い抽出し、これを 2 倍濃縮してマトリックス液を調製した。0.4 µg/mL に調製したアセフェート標準液をマトリックス液及び酢酸エチルで 2 倍希釈し、それぞれマトリックス添加標準液及び溶媒標準液とした。これらの溶液について、アセフェートの保持時間における昇温速度を 3, 2, 1, 0.5, 0.3, 0.1 及び 0 °C/min とし測定し、各昇温速度におけるピーク形状および面積を比較した。

3.2 固相カラムによる精製

試料を図 2 に従い抽出し、これを約 1 mL まで濃縮したのち、InertSep GC/PSA (500 mg/500 mg/6 mL) に負荷し、アセトン:ヘキサン (7:3) 25 mL で溶出させた。溶出液を減圧濃縮し、窒素パージによる乾固後、酢酸エチルで 20 mL に定容し試験溶液とした。また、精製操作による農薬成分の回収率への影響を確認するため、酢酸エチルで 1.0 µg/mL に調製した各混合農薬標準液 1 mL を用いて同様の操作を行い、

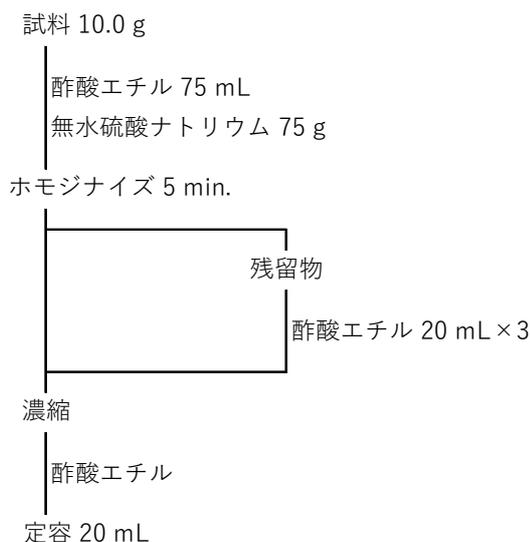


図 2 試験溶液調製（抽出）方法

回収率を確認した。

III 結果および考察

1 カラム昇温速度によるピーク分離の検討

各昇温速度におけるアスパラガス酸とアセフェートのピークの形状と分離度を図 3 に示す。当該ピークが出現する時間の昇温速度を下げるにつれて、アセフェートのピークはアスパラガス酸のピークから分離していく傾向がみられた。分離度は昇温速度 1 °C/min 以下において日本薬局方で完全分離の基準とされる 1.5 以上の値となった。ただし、アスパラガス酸はアセフェートよりピーク面積がはるかに大きいため、分離度だけでは実際に定量できるか判断できなかった。そこで、アセフェートの溶媒標準液

表 1 装置および測定条件

装置	炎光光度検出器付ガスクロマトグラフGC2010Plus (株)島津製作所製
カラム	DB-1701P (Agilent Technologies社製, 内径0.32 mm, 長さ30 m, 膜厚0.25 µm)
注入口温度	250 °C
検出器温度	270 °C
キャリアーガス	ヘリウム
メイクアップガス	ヘリウム
注入方法	スプリットレス
注入量	1 µL
カラム温度	60 °C (2 min) -25 °C/min-150 °C-3 °C/min-200 °C-30 °C/min-270 °C (10 min)

のピーク面積を1として、分離したアセフェートのピーク面積との比を求めた。その結果、昇温速度 0.1 °C/min のとき、ピーク面積比が 0.90 となった。この条件について、ピークの保持時間をもとに測定条件を再検討したところ、最短約 46 分で測定できることが示唆された。

2 固相カラムによる精製

試料の試験溶液ではアスパラガス酸のピークがみられなかった。しかし、この試験溶液を 20 倍に濃縮して分析したところ、アスパラガス酸のピークが確認された。したがって、本精製では試験溶液中のアスパラガス酸を完全に除去できないものの、硫黄原子由来の蛍光がリン用の干渉フィルターを透過し

て検出される閾値以下まで減少させることが判明した。

また、混合標準液を用いて現在当所で一斉分析を実施している有機リン系農薬 31 項目について精製操作による回収率への影響を確認した(表 2)。ジクロロボス、ホルモチオン、ジメトエート以外の項目は 70-120 % を満たした。ジクロロボスは蒸気圧が 0.0158 mmHg (25 °C) であり、揮発性が高い²⁾。そのため、減圧濃縮時に揮発し、回収率が低くなった可能性がある。ホルモチオンは回収率が低く、ジメトエートは回収率が高くなった。ホルモチオンは前処理または GC 測定時に脱ホルミル化によりジメトエートに変化することが知られている(図 4)³⁾。今

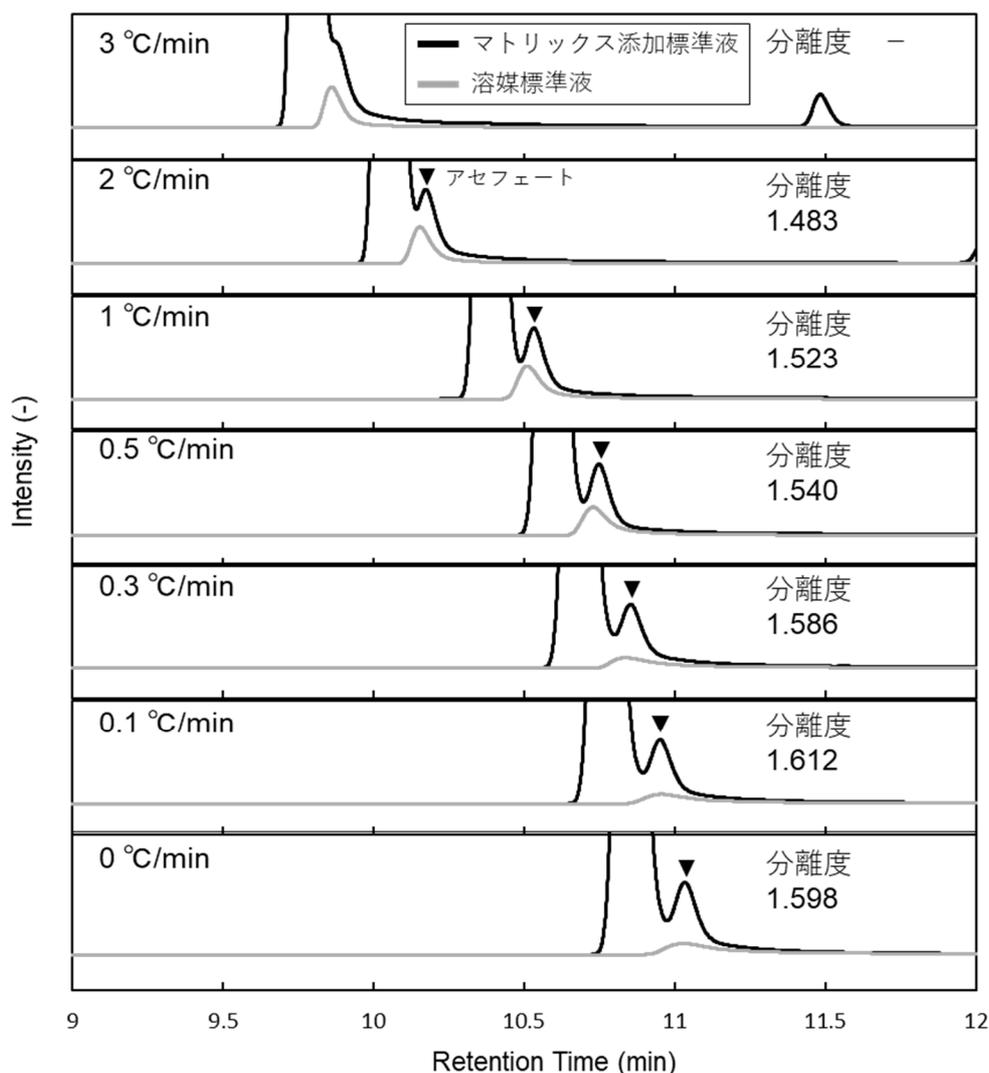


図 3 昇温条件によるアセフェートとアスパラガス酸の分離度

表 2 検査対象項目の固相カラム精製後の回収率

項目	回収率 (%)	項目	回収率 (%)
ジクロルホス	51.9	ホサロン	82.4
メタミトホス	106.6	エトリムホス	100
アセフェート	92.3	ジクロフェンチオン	100.9
カスサホス	98.9	ジメトエート	131.3
ダイアジノン	98.2	トルクロホスメチル	107.7
ピリミホスメチル	101.4	クロルピリヒス	103.5
E-ジメチルピホス	91.8	パラチオンメチル	101.1
マラチオン	94.4	ホルモチオン	55.9
Z-ジメチルピホス	95.1	フェントロチオン	105.4
E-クロルフェンピホス	96.3	パラチオン	102.4
キナルホス	92.9	フェントエート	99.3
Z-クロルフェンピホス	108.7	プロチホス	100.8
ホスチアエート1&2	96.1	メチダチオン	102.1
プロフェノホス	98.3	ブタミホス	101.9
エチオン	100.3	EPN	97.5
エチイフェンホス	95.7	ホスメット	92.2
ピリダフェンチオン	92.3		



図 4 ホルモチオンの分解反応式

回の検討では標準液を試料に添加した場合の添加回収試験を実施していないことから、マトリックスの影響は不明である。今後、回収率の改善を含め、さらなる検討が必要と考えられた。

IV参考文献

- 1) 上野英二, 大島 晴美, 斎藤 勲, 他. デュアルカラム GC-FPD,-NPD による野菜・果実中の有機リン系農薬の多成分分析. 食品衛生学雑誌, 2001, 42, 385-393.
- 2) 環境省環境保健部環境リスク評価室. 化学物質の環境リスク評価 第2巻. 2003.
- 3) 柿本洋一郎, 岡部亮, 久保田晶子, 他. GC-MS/MS を用いた農産加工食品等の残留農薬分析法の妥当性評価について. 道衛研所報, 2017, 67, 41-56