

研 究

残留農薬の分析

～Tetrachloroisophthalonitrile (TPN) の分析と定量～

浜崎 一美¹⁾ 山下 正秀¹⁾ 高木 正英¹⁾ 緒方 秀夫¹⁾
 高頭 正長²⁾ 亀山 宏平²⁾ 飯吉 稔³⁾

1. はじめに

農作物の害虫や雑草等を防除する目的で使用されている農薬は、近代農業にとって必要不可欠な薬剤である。農薬はさまざまな生理作用を持つため、農薬散布に従事する人や農作物に付着した残留農薬を摂取する一般消費者に対する健康への危険性がクローズアップされている。

厚生連に勤務する我々にとって農薬の知識を得、その分析技術を習得し地域住民の健康管理に貢献することが今後ますます必要と思われる。

まず、その出発点としてデータが殆ど公表されていない残留農薬について実験を行なった。従来、TPNの残留分析にはガスクロマトグラフィー (GC) が用いられていたが、今回は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて、ハウス栽培トマト中のTPNの残留量を定量するための定量方法の開発と分析結果について報告する。

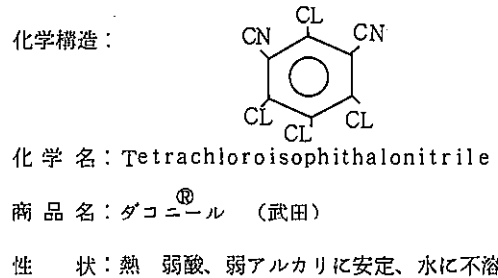
(1) TPNについて

今回の試験したTPNの化学構造は(図1)のようにM位にシアノ基と4つのクロル基をつけた構造をしている。商品名はダコニール水和剤、石灰色性の粉末剤であり、TPNの含量は75%である。

性状は熱、弱酸、弱アルカリに強く水に不溶で、急性中毒はマウスの経口でLD₅₀値プロキロ3.7g、ラットでプロキロ10gである。

TPNは製剤的に3種類あり、生産量は噴霧剤で新潟県が全国の約1割の216.8tをしめており、含量の多い水和剤は29.9tで全国の約1.5%である。

図1 TPNの構造と性状



また、昭和59年度の農薬要覧によると、年間生産10億円以上で使用頻度ベスト10位中、ダコニールは9位に位置している。ちなみに1位はグラモキシオン(パラコート)である。

ダコニール水和剤は600倍に希釈され、新潟県農作物病害虫雑草防除指針により、トマトでは疫病・灰色かび病・輪紋病に適用されている。また、TPNの安全基準は収穫14日前に使用すること、散布日は露地では4回ハウスなどでは2回と総使用回数を制限するように一様決められている。

(2) 農薬の残留性とその検査

今回はハウス栽培トマトについて実験したが、ハウス栽培は露地よりも高温多湿であり、連作や異常低温を受けることから灰色かび病や葉かび病が多くなる。また、密閉に近い状態なので、アブラムシによるウィールス病などが減少しかつ、農薬の残留性が増す。さらに、使用従事者の安全性が非常に問題になる。

農薬の残留基準は食品衛生法の規定に基づく、食品

1) 中央総合病院 薬剤科
 2) 中央総合病院 内科
 3) 三条総合病院 薬剤科

規格として定められている。尚、調査機関は都道府県衛生部で行なっている。

農薬取締法によって登録を受けた農薬約300種のうち、食品衛生法に基づく規格が定められている農薬は26種、対象作物は56種である。しかし、それ以外の農薬は環境庁長官が定める基準、環境庁告示によって残留農薬の基準を設けている。我々の検査したTPNの残留基準は1.0ppm以下である。

残留農薬調査の実態は、最も検査体制が整っている大阪府でさえ、56年データは年4回の調査で、検査対象物は10~23種、総検体は177検体しか調べられていない。このように、検査体制が不備なうえに検査に時間がかかるためたまたま基準値オーバーの作物が見つかったとしても、その時は後の祭りになっている事が多いそうである。

2. 実験の部

(1) HPLCの分析条件

今回TPNの定量には高速液体クロマトグラフィーを用いた。以下HPLCと略す。図2にその分析条件を示す。

図2 高速液体クロマトグラフの分析条件

装置:	ポンプ BIP-1 (日本分光)
	検出器 UVIDEC-100-IV (日本分光)
	データ処理装置 Chromatocorder II (システムインストルメンツ)
カラム:	Finepack c18s (0.5 μ m)
移動相:	アセトニトリル:0.005Mリン酸緩衝液 (PH3.8)=6:4
流速:	1.0ml/min
カラム温度:	室温
検出:	UV (241nm)
注入量:	10 μ l

(2) TPNの定量精度

表1は1ppmTPNの定量の再現性である。

Retention timeは5.833分、変動係数は0.15%であった。また、ピーク面積の変動係数は2.22%であった。

表1 TPNの定量精度 (1ppm)

	保持時間(min)	ピーク面積(μ v)
平均値 x	5.833	99313.8
標準偏差 SD	0.008	2206.4
変動係数 cv%	0.15	2.22

(n = 5)

(3) TPN標準物質と市販品のHPLCチャート図3の右側はTPN 5 μ g、99%、標品のHPLCチャートで、左側は市販品ダコニールの10.5 μ gである。両方とも

分解物や異性体、その他の妨害ピークは現われなかった。

(4) トマトのHPLCチャート

図4は、無農薬トマトを抽出したHPLCチャートである。感度を高くしてあるが、非常に多種多様の物が含有されている。

図3 TPN標準物質と市販品(ダコニール)のHPLCチャート

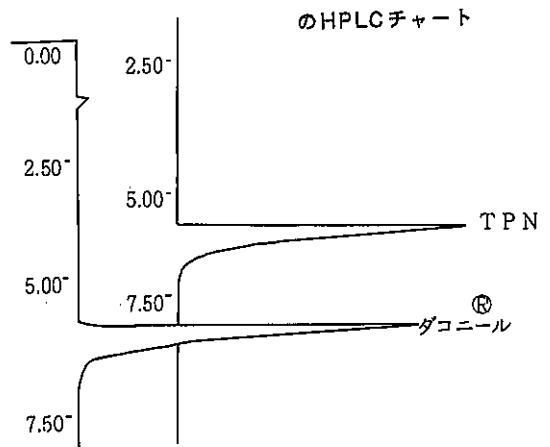
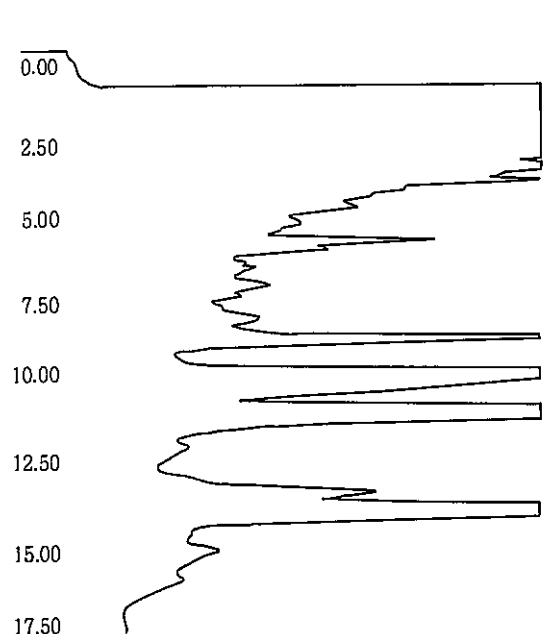


図4 トマトのHPLCチャート



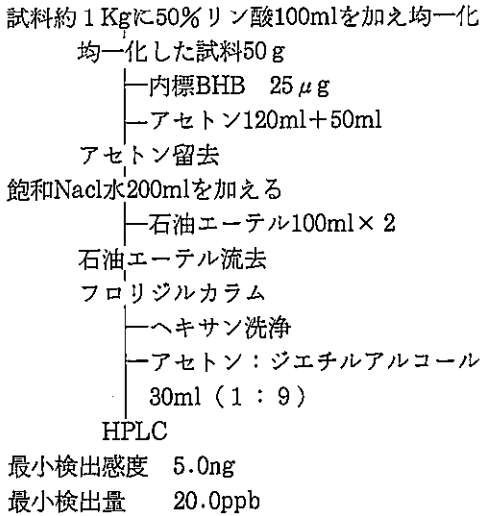
(5) 操作方法 (A)

図4のような雑多なピークを整理してTPNを定量するために、トマト中の妨害物質とTPNを分離する前処理抽出操作をおこなう。

まず、トマト1kgと50%リン酸100mlとを均一化し、50g秤量する。そこに内標BHBを25 μ g入れ、アセトン120mlを加え15分間振とうさせ、ろ過する。抽出残渣にアセトン50mlを加え、再度10分間振とうさせる。アセトンを減圧下濃縮し、飽和NaCl水で塩析をおこなう。石油エーテル100mlを2回で、石油エーテル層に目的物を移行させ、そして減圧下濃縮を行なう。そこにn-ヘキサン30mlで溶解後、吸着剤のフロリジルカラムを通し、n-ヘキサン30mlで洗い、またアセトン：ジエチルエーテル1対9を30mlで溶出させ減圧濃縮し、アセトニトリル2mlに溶かしHPLCにかける。

以上フロリジル処理までの前処理に約5時間、その後約5時間を要し、evapolate操作は都合4回行なう。また、この最小検出感度は5.0ng、この操作(A)、(図5)の最小検出量は20.0ppbである。

図5 トマトからのTPNの抽出操作 (A)

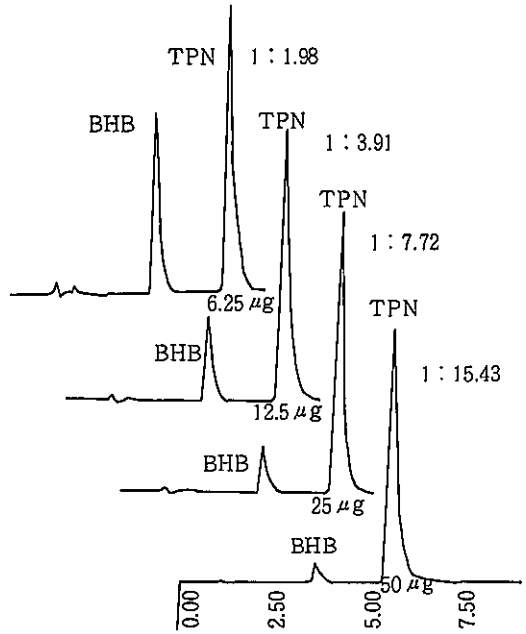


この操作法のうち、内部標準物質とフロリジルカラムについて説明を加える。

内部標準法とは分析試料中に含有されず、定量する物質(この場合TPN)と化学的性質が似ている物質を一定濃度使い、内部標準物質と目的物質(本検査ではTPN)のピーク高さ比、又は面積比から定量する方法である。今回の実験では内部標準物質をn-Butyl-P-Hydroxy-Benzoate、略してBHBを使った。図

6はTPN標品を6.25 μ gから50.0 μ gまで2倍ごとに同濃度のBHBに対して加えたもので、その面積比は約2倍から16倍となった。

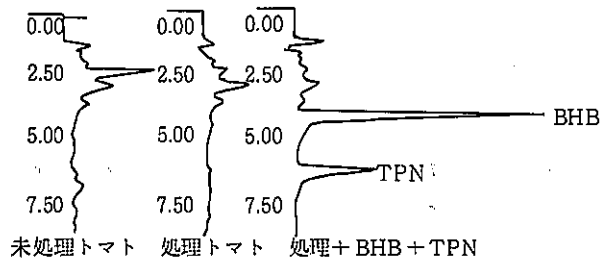
図6 メタノール標準液の内部標準物質(BHB)とTPNの比



石油エーテル抽出だけではTPNとトマトの成分との分離が完全ではなく、またHPLCによる連続測定もできないので、フロリジルカラムによる精製も加えた。

図7はフロリジル処理前までの抽出トマトのHPLCチャートで、処理後は内部標準物質BHBのRetention Timeは約4分、TPNは約6分で、そこには妨害するピークは見られなくなった。

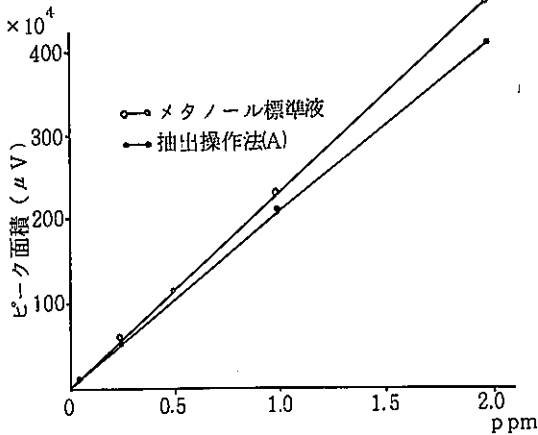
図7 トマトのフロリジル処理による比較



(6) TPNの絶対検量線

図8はTPNの絶対検量線である。メタノール標準液も抽出操作(A)も原点を通る直線になった。抽出操作による回収率は93.7%±5.16であった。

図8 TPNの絶対検量線



(7) 内部標準法によるTPNの検量線

図9 内部標準法によるTPNの検量線

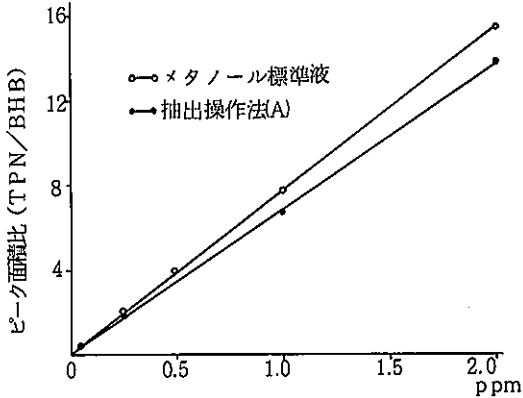


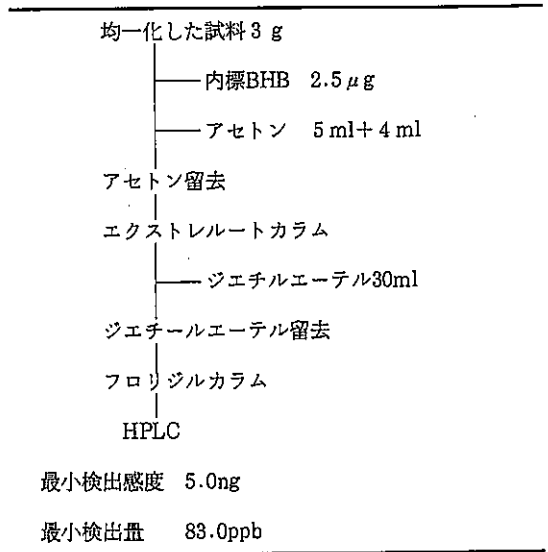
図9は内部標準法による検量線である。縦軸はTPNとBHBの面積比、横軸はTPN濃度である。絶対検量線と同様に良好な検量線が得られた。

(8) 操作方法(B)

抽出操作(A)では時間がかかるため、多検体処理には問題がある。そこで、アセトンから石油エーテル迄をはぶくために、エキストレールートカラムを利用した。これにより抽出操作時間が約4時間短縮され、また有機溶媒の消費を減少することができた(図10)。

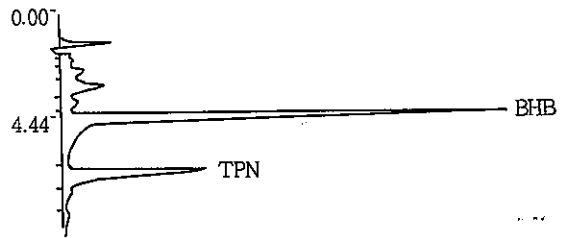
最小検出量は83.0ppbであった。

図10 トマトからTPNの抽出操作(B)



(9) エキストレールート処理によるHPLCチャート
操作方法(B)によるHPLCチャートが図11である。試料が50gから3gに減ったことにより、ベースラインがより安定した。

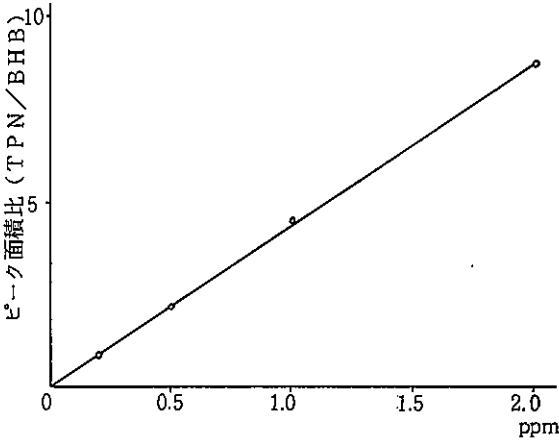
図11 エキストレールート処理によるHPLCチャート



(10) 内部標準法によるTPNの検量線

図12はエキストレールートカラム使用の内部標準法の検量線である。原点を通る良好な直線になった。回収率は83.12%±6.00であった。

図12 内部標準法によるTPNの検量線 (エキストレール使用)

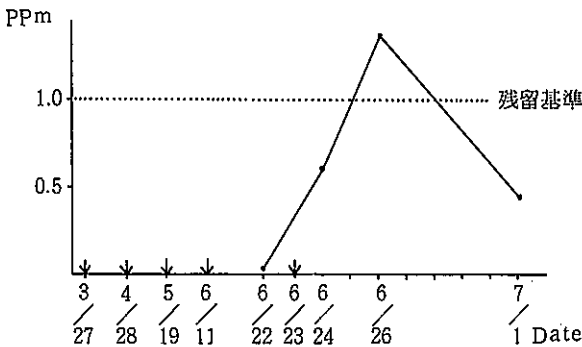


3. 結果と考察

(1) 操作方法 (A) より

図13はTPNの散布日と残留農薬の関係を表わしたものである。

図13 TPNの散布日と残留農薬



公的機関の協力を得て、現実的な条件のトマトを分けていただいた。矢印は散布日を表す。最終散布日6月23日をいれ5回散布し、散布前日、散布翌日、3日目、8日目のTPNの残留農薬を表わしている。ピークは3日目で残留基準1ppmをこえた。しかし、散布8日後、前日も残留基準より低いことから、安全基準どおりの14日後の出荷時では残留基準をはるかに下まわると思われる。

しかし、施設園芸では、農薬散布に関係なく、数ヶ月にわたって毎日収穫が行なわれているのが現状である。また、散布翌日にTPN濃度が大きくないのは散布

ムラがあったためと考えられる。このことは反対に農薬が多量に付着しているトマトの存在を指摘する。

図14 ダコニール散布前日と翌日のHPLCチャート

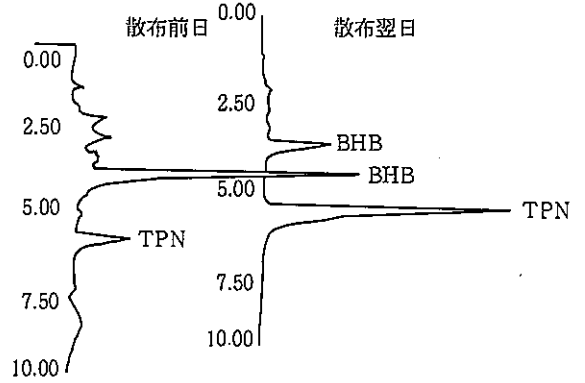


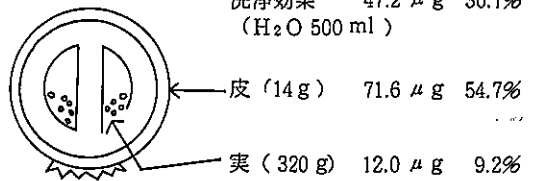
図14は散布日前後のHPLCチャートである。BHBとTPNの比は翌日が前日の約8倍になった。

(2) 操作方法 (B) より

図15は散布翌日のトマトのTPNの分布状態である。試料は中位のトマト2ケを使い、水500mlによる洗浄効果と皮と実の部分含量を調べた。

図15 散布翌日のトマトのTPNの分布状態

含量 全体に対する割合
洗浄効果 47.2 μg 36.1%
(H₂O 500 ml)



洗浄により全体の36.1%の残留農薬を取り除くことができた。また、皮の部分だけに54.7%ものTPNがあった。実際に、流水でよく洗浄した場合には50%以上TPNが洗浄されると思われる。また、皮をむいて食べれば90%以上の農薬を除去できると思われる。

4. 終わりに

TPNの残留分析には従来、GCが用いられていたが今回HPLCを用い、トマト中のTPNの残留量を精度よく定量することができた。残留農薬の分析には従来、

高感度なGCが主に使われているがTPNのように残留基準値が大きい農薬の定量にはHPLCにより精度よく分析することができると推測される。GCに比べHPLCでは内部標準物質の選択が容易であり、複雑な抽出操作時の損失を内部標準法でカバーでき定量精度を上昇させること、又、分子量が大きく揮発性の少ない農薬でも誘導化の必要がなくそのまま注入でき省力化になる等、GCに比べすぐれた利点を持つのでHPLCを用いた残留農薬の定量が今後、ますます重要になると思われる。

今回実験したTPNの残留量については安全使用基準どおり使われれば、その残留量はかなり低いものと思われる。

文 献

- 1) 新潟県植物防疫協社：農作物病害虫雑草防除指針 (1986)
- 2) 公害、消費者問題対策特別委員会：消費者のための農薬の本 (1984)

しかし、実際には散布回数、濃度とも基準を上回って使用していることも確かである。

残留農薬の検査を定期的に行なうために、操作方法が容易で迅速に多検体処理ができる方法の開発が必要と思われる。

本論文の要旨は1987年4月第17回全国厚生連病院薬剤長会議総会(京都)、1987年5月第23回新潟県厚生連勤務薬剤師会研修会(長岡)で発表した。

分析に関する文献

- ・後藤真康：残留農薬分析法、ソフトサイエンス社 (1980)
- ・石井康雄：ぶんせき、P. 771 (1976)
- ・J. F. Lawrence, D. Turton: J. Chromatogr., 159, 207 (1978)
- ・F. Eisenbeiss, H. Sieper: J. Chromatogr., 83, 439 (1973)
- ・H. A. Moye: J. Chromatogr. Sic., 13, 268 (1975)
- ・C. M. Sparacino, J. W. Hines: J. Chromatogr. Sci., 14, 549 (1976)
- ・J. F. Lawrence: J. Agric. Food Chem., 25, 211 (1977)