

平成 12 年度 厚生科学研究補助金（生活安全総合研究事業）

食品中残留農薬検査の超迅速化に関する調査研究

研 究 報 告 書

主任研究者

国立医薬品食品衛生研究所 食品部

佐々木久美子

分担研究者

国立医薬品食品衛生研究所 大阪支所

外海 泰秀

東京都立衛生研究所 生活科学部

永山 敏廣

星薬科大学 薬品分析化学研究室

中澤 裕之

## 目 次

### 総括研究報告書

食品中残留農薬検査の超迅速化に関する調査研究	-----	1
------------------------	-------	---

### 分担研究報告書

1. 超臨界流体抽出、GC/MS による一斉分析法に関する研究	-----	5
2. 超臨界流体抽出、LC/MS による一斉分析法に関する研究	-----	23
3. LC/MS による残留農薬試験法に関する研究	-----	55
4. 農薬イムノアッセイと機器分析の比較評価に関する研究		
(1) ピレスロイド系殺虫剤ペルメトリンの ELISA 開発に関する研究	-----	73
(2) イムノアフィニティーカラムクリンナップ/HPLC による柑橘類中 イマザリルの分析	-----	87
(3) 残留農薬のイムノアッセイキットによる分析	-----	99

研究成果の刊行物別刷	-----	115
------------	-------	-----

# 総括研究報告書

食品中残留農薬検査の超迅速化に関する調査研究

主任研究者 佐々木久美子

厚生科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)  
総括研究報告書

食品中残留農薬検査の超迅速化に関する調査研究

主任研究者 佐々木久美子 国立医薬品食品衛生研究所 食品部第一室長

研究要旨

農作物の残留農薬試験に日常的に活用できる迅速且つ精度の高い試験法を確立することを目的として、4課題の分担研究を実施した。

(1) GC/MS で測定可能な 159 農薬を対象に、水分含量が多い果実、野菜への SFE の適用を検討した。試料とセライトの混合物に乾燥剤としてリン酸塩を添加して SFE を行った後、クリーンアップなしで GC/MS で測定する簡便で迅速な分析法を確立した。

(2) 18 農薬を対象に、玄米、野菜、果実から SFE で抽出し、カートリッジカラムでクリーンアップ後、LC/MS で測定する一斉分析法を開発した。併せて、LC/MS による農薬分析に関する文献調査を行った。

(3) LC/MS によって、N-メチルカルバメート系農薬、スルホニルウレア系農薬など 27 農薬を迅速に一斉検出する条件の検討を行った。また、これら農薬の農作物からの簡易一斉検出を試み、N-メチルカルバメート系農薬はほとんど前処理を行わなくても一斉分析できることがわかった。

(4) ペルメトリンのポリクロナール抗体を作製し高感度な ELISA 分析法を開発した。本抗体を使用することによりピレスロイドタイプ I と II のタイプ別測定が可能となった。また、イマザリルに対するモノクロナール抗体を用いてイムノアフィニティークリンナップカラムを作製し、柑橘類中イマザリルの HPLC 分析試料溶液調製に適用した。精製効果は従来の前処理法に比べ、格段に優れており、前処理の簡便化、迅速化に有効であった。更に、ダイアジノン、クロルピリホス及びアルジカルブの市販 ELISA キットの共同比較試験を行い、有用性を検討した。

分担研究者

佐々木久美子 国立医薬品食品衛生研究所  
食品部第一室長  
外海泰秀 国立医薬品食品衛生研究所  
大阪支所 食品試験部長  
永山敏廣 東京都立衛生研究所  
生活科学部食品研究科主任研究員  
中澤裕之 星薬科大学  
薬品分析化学研究室 教授

おり、食の安全性確保に貢献している。基準値が設定されたこれらの農薬を試験するために 110 通りの試験法が告示されている。しかし、行政検査において多数の農薬を告示試験法で検査するには多大な労力と時間を要するため、一斉分析法の開発や簡易なスクリーニング試験法の開発が切望されている。本研究では食品中残留農薬検査の超迅速化を目的として下記の分担研究、4 課題を実施した。

A. 研究目的

食品衛生法では平成 13 年 3 月現在 214 農薬に対して農作物中の残留農薬基準が設定されて

(1)超臨界流体抽出(SFE)及び GC/MS による一斉分析法、(2)SFE 及び LC/MS による一斉分析法、(3)LC/MS による定性及び定量、(4)酵素免疫測定法(ELISA)。

## B. 研究方法

### 分担研究 1

水分の多い野菜の代表としてトマトを用いて、アセフェートなどの高極性農薬を含む 159 農薬の SFE のための試料調製法を検討した。さらに SFE 条件を最適化し、添加回収試験を行った。

### 分担研究 2

農薬に対する LC/MS の適用性、定量性を検討した。次いで、18 農薬、6 作物について、SFE による抽出、ミニカラムによる精製及び LC/MS による一斉分析法を検討した。同時に同一検体について GC/MS での測定を行い、LC/MS との優劣を比較した。

### 分担研究 3

14 種類の N-メチルカルバメート系農薬及び 13 種類のスルホニルウレア系農薬など、計 27 種類について、LC/MS により一斉に検出する方法を検討し、3 作物に対する添加回収実験を行った。

### 分担研究 4

①ペルメトリンハプテンに種々のタンパク質を結合させた抗原をウサギに約 3 ヶ月間免疫して得たポリクロナール抗体を用いて 8 種類のコーティング抗原をスクリーニングし、アッセイ系を最適化した。他の合成ピレスロイドの交差反応性を調べた。

②イマザリルに対するモノクローナル抗体を用いてイムノアフィニティークリンナップ(IAC)カラムを製作した。IAC カラムの性能評価、イマザリルの溶出挙動、IAC カラムの精製効果を調べ、柑橘への添加回収試験を行った。

③ダイアジノン、アルジカルブ及びクロルピリホス測定用の市販 ELISA キットの有用性を共同比較試験で評価した。

## C. 研究結果

### 分担研究 1

果実・野菜中の残留農薬の SFE を用いた多成分分析法について、159 農薬を用いて検討した結

果、アセフェートやメタミドフォスなどの高極性農薬の抽出には、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 / \text{NaH}_2\text{PO}_4$  (7 : 1)混合物を乾燥剤として用いる方法が有効であることを見いだした。また、SFE 用の試料調製法としては、試料とセライトと乾燥剤を 2 : 2.4 : 1.5 の割合で混合することにより良好な結果が得られた。更に、アセトンをモディファイヤーに用いることにより、乾燥剤の添加により回収率の低下する低極性農薬の回収率の改善を図ることができた。確立した方法で得られた SFE 抽出液は、有機溶媒抽出法に比較して夾雑物が少なくクリーンアップ操作なしで GC/MS で定量することができ、また、試験溶液の調製時間も 1 検体当たり 1 時間程度で、有機溶媒抽出法より操作が大幅に簡略化されかつ分析時間が短縮された。

### 分担研究 2

農作物中の 18 農薬について SFE、LC/MS による分析法を作成した。Extrelut<sup>®</sup>NT と Bond Elut<sup>®</sup>C18 で SFE からの抽出物を捕集し、ミニカラム (Florisil と PSA) で精製した後、LC/MS(SIM)で同時に定性・定量した。

18 農薬の回収率は一部農薬を除いて概ね 60 %以上で、本法はスクリーニング法として有効であると考えられた。また、本法では 18 農薬の基準値レベル以下の検出が十分可能であった。但し、にんじん、たまねぎ、オレンジ等妨害物が極端に多い作物ではいくつかの農薬については適用困難であった。また、一部再現性の悪い農薬については、GC/MS も利用することにより良好な結果が得られた。

### 分担研究 3

昨年度は、キャピラリーカラムを用いた N-メチルカルバメート系農薬の一斉分析法を検討し、高感度化と分離条件の最適化を試みた。今年度は内径 2.0mm のカラムを用いて、玄米、ぶどう、ピーマンで検討した結果、アルジカルブ、オキサミル及びカルバリルなどの N-メチルカルバメート系農薬は、ほとんど前処理を行わなくても一斉分析できること

がわかった。しかし、スルホニルウレア系農薬の一部は保持時間の変動が見られた。

#### 分担研究 4

①合成ピレスロイド殺虫剤ペルメリンの ELISA 分析法の開発を目的に研究を行ったが、得られた抗体はシアノ基を強く認識することが明らかとなった。その結果、本抗体を用いることで、構造が類似であるタイプ I、タイプ II ピレスロイド殺虫剤のタイプ別一斉分析の可能性が見い出された。

②作製したイマザリル分析用イムノアフィニティークリンナップカラムは、柑橘類試料中に残留するイマザリルを保持するために十分な保持容量を有し、約 30 回程度の繰り返し利用が可能であった。また、本カラムの精製効果は、従来の前処理法に比べ、格段に優れていた。本カラムを用いた各種柑橘類試料からの添加回収試験の結果も良好であった。

③複数の機関でダイアジノン、アルジカルブ及びククロピリホスを農作物に添加し、市販 ELISA キットで分析した結果、これらのキットは問題点はあるが、スクリーニング法として利用するにはおおむね妥当との結論を得た。

### D. 考察

#### 分担研究 1

一昨年度、昨年度に検討した穀類、茶葉に加え、野菜・果実についても SFE が抽出手段として有用であり、クリーンアップ操作が不要であることが証明された。さらに従来 SFE で回収率が低かった高極性農薬への適用も可能になったことから、SFE は簡便且つ有効な抽出法として実用が期待される。

#### 分担研究 2

LC/MS で再現性ある測定値を得るには LC/MS 装置の使用法に十分な注意を払う必要があったが、定性のみならず定量も行えることがわかった。

検討した 18 農薬を LC/MS で分析するには 3 種の条件で測定しなければならないが、昨年度検討

した HPLC による方法に比べ、試験溶液調製の時間短縮化が図れた。

LC/MS で基準値レベル以下の検出が十分可能であり、定量手段としての LC/MS の使用が期待される。

#### 分担研究 3

昨年度は、キャピラリーカラムを用いた N-メチルカルバメート系農薬の一斉分析法を検討した。今年度は内径 2.0mm のカラムを用いて検討した結果、N-メチルカルバメート系農薬は、ほとんど前処理を行わなくても LC/MS で一斉分析できることがわかった。しかし、スルホニルウレア系農薬の一部は保持時間の変動が見られることもあり、今後その原因の把握と解決に向け更に検討加える必要がある。

#### 分担研究 4

① ELISA は機器分析に比較してサンプル処理能力が高いため、機器分析にかかる検体数を減らすための初期スクリーニング法として有用である。今回、構造が類似であるタイプ I、タイプ II ピレスロイド殺虫剤のタイプ別一斉分析の可能性が見い出されたことから、合成ピレスロイドのスクリーニング分析への応用が期待される。

②イムノアフィニティークラムと機器分析をリンクさせることにより、試料調製の迅速化、検体処理能力の向上、並びにクリーンアナリシスを達成することが可能となった。また、簡便な操作で従来の前処理法よりも高い精製効果を得ることも可能であった。

数種類の抗体、若しくは類似構造農薬に対し広い交差反応性を有する抗体を用いたカラムによる多成分一斉分析法の開発が期待される。

③市販 ELISA キットは品質保証期間が比較的短く、高価である。また、製品により、操作に習熟が必要であったり、感度が低い、交差反応性を示す農薬が多いなど一長一短があった。キットの使用に際しては農作物によっては感度や交差反応性を考慮すべきであるが、特定の残留農薬を測定する

目的であれば、スクリーニング法として有用な手段となり得るものと考えられる。

## E. 結論

農作物中の残留農薬迅速分析法に関する下記の 4 課題の研究を実施した結果、残留農薬分析の迅速化、自動化、分析精度向上、スクリーニング分析にとって有用な研究成果を得た。

- 1) 超臨界流体抽出(SFE)－GC/MS(SIM)による野菜、果実中残留農薬の一斉分析法
- 2) 超臨界流体抽出(SFE)－LC/MS による野菜、果実中残留農薬の一斉分析法
- 3) LC/MS による N-メチルカーバメート系及スルホニルウレア系農薬等の一斉分析
- 4) 酵素免疫測定法(ELISA)

①ピレスロイド系殺虫剤ペルメトリンの ELISA 開発に関する研究

②イムノアフィニティーカラムクリンナップ/HPLC による柑橘類中イマザリルの分析

③残留農薬の市販イムノアッセイキットによる分析の検討

上記の各研究成果を実用することにより、あるいはさらに発展させることによって、農作物中残留農薬の迅速試験法が確立できる。さらに、SFE 及び ELISA によって分析に使用する有機溶媒量が削減でき、労働衛生上及び環境保全上も好ましいと考えられる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

[1] E. Watanabe, Y. Tsuda, S. Watanabe, S. Ito, M. Hayashi, T. Hayashi, Y. Yuasa, H. Nakazawa,

Anal. Chim. Acta 424 (2000) 149-160.

[2] E. Watanabe, S. Watanabe, S. Ito, M. Hayashi, T. Watanabe, Y. Yuasa, H. Nakazawa, J. Agric. Food Chem. 48 (2000) 5124-5130.

[3] E. Watanabe, Y. Yoshimura, Y. Yuasa, H. Nakazawa, Anal. Chim. Acta, in press.

### 2. 学会発表

[1] 渡辺栄喜、津田祐理子、大曾根知、渡辺卓穂、中澤裕之、渡邊繁幸、伊東茂寿、湯浅洋二郎:ELISA による玄米中イナベンフィドの分析、日本薬学会第 120 年会(岐阜、2000. 3)

[2] 渡辺栄喜、湯浅洋二郎、中澤裕之:イムノアフィニティーカラムクリンナップ/HPLC による柑橘類中イマザリルの分析、日本食品化学学会第 6 回総会・学術大会(東京、2000. 5)

[3] Eiki Watanabe, Yojiro Yuasa, Kumiko Sasaki, Hiroyuki Nakazawa: Immunochemical techniques for the rapid determination of azole fungicide imazalil in citrus fruits, Pittcon 2001 (New Orleans, LA, March, 2001)

[4] Eiki Watanabe, Yuriko Tsuda, Tomo Osone, Hisaga Moritaka, Yojiro Yuasa, Hiroyuki Nakazawa: Immunochemical techniques for the simple and rapid determinations of imazalil and inabenfide in agricultural products, 221st ACS National Meeting (San Diego, CA, April, 2001)

## 分担研究報告書

超臨界流体抽出, GC/MS による一斉分析法に関する研究

分担研究者 佐々木久美子



# 厚生科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)

## 分担研究報告書

### 超臨界流体抽出, GC/MS による一斉分析法に関する研究

#### — 果実・野菜試料について —

分担研究者 佐々木久美子 国立医薬品食品衛生研究所食品部 第一室長

#### 研究要旨

超臨界流体抽出(SFE : Supercritical fluid extraction)を用いた果実・野菜中の残留農薬の多成分分析法について代謝物を含む 159 農薬(有機塩素系農薬 26, ピレスロイド系農薬 14, カーバメート系農薬 18, 有機リン系農薬 45, その他 56)を用いて検討した。試料とセライトとの混合物に乾燥剤を添加して SFE を行った後, クリーンアップなしでガスクロマトグラフー質量分析計(GC/MS)で測定する簡便で迅速な分析法を確立した。SFE の妨げとなる水分を除くため, 試料調製の際に乾燥剤として無水リン酸水素二ナトリウムと無水リン酸二水素ナトリウムの混合物が効果的であることを見いだした。また, 試料に農薬を添加して抽出密度などが回収率に与える影響について検討し SFE 条件の最適化を図った。本法により得られた SFE 抽出液は有機溶媒抽出法に比較して夾雑物が少なくクリーンアップ操作を省略することで, 試験溶液の調製時間も1検体当たり1時間程度であり, 有機溶媒抽出法より操作も大幅に簡略化され, 分析時間も短縮された。

#### 研究協力者

根本 了 国立医薬品食品衛生研究所食品部

#### A. 研究目的

我々はこれまで, 残留農薬分析の迅速化・省力化を図るために, 穀類及び茶試料に対する SFE を用いた残留農薬の多成分分析法を開発してきた。SFE は試料調製の問題からこれまで主に乾燥試料に用いられてきたが, 今回, 適用範囲を広げるために水分含量が高い果実・野菜試料に対する SFE 法の開発を行った。また, 野菜類にはクロロフィル含量が多いものがあり, これは多くの場合分析操作の障害となる。有機溶媒抽出ではクロロフィルと農薬を分離抽出することは困難であるが, SFE は選択的抽出が可能であるためクロロフィルと農薬を分離抽出できる可能性があり, クリーンアップ操作を省力できるなど, 迅速化・省力化に大きく貢献するものと期待される。

#### B. 研究方法

##### 1. 試料

東京都内の小売店で購入したものを, ホモジナイズして均一化して試料とした。

##### 2. 試薬及び試液

試薬: *n*-ヘキサン(ヘキサン), アセトニトリル(MeCN), アセトン, 酢酸エチル(EtOAc), メタノール(MeOH), エタノール(EtOH), NaCl 及び無水硫酸ナトリウム( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )は残留農薬分析用試薬(和光純薬工業(株)または関東化学(株)製)を使用した。イソプロピルアルコール(IPA)は高速液体クロマトグラフ用(和光純薬工業(株)製)を用いた。無水リン酸水素二ナトリウム( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )と無水リン酸二水素ナトリウム( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )は試薬特級(和光純薬工業(株)製)を使用した。SFE では純度 99.999 %の液化炭酸ガス( $\text{CO}_2$ )を抽出用に, また純度 99.99 %の  $\text{CO}_2$  を冷却用に使用した。セライトは和光純薬工業(株)製のセライト No.545 を使用した。

農薬標準品:いずれも林純薬工業(株), 和光純薬工業(株)または Riedel-de Haën社製の残留農薬試験用試薬を用いた. 表1に検討に用いた農薬を示した.

農薬標準原液:各農薬標準品をヘキサンで溶解して(溶解しにくい場合にはできるだけ少量のアセトンで溶解後ヘキサンで希釈して) 1 mg/mLの濃度に調製し, 冷凍庫(-30℃)に保存した.

農薬標準混液:各農薬標準原液をとり, アセトンを加えて 10 µg/mL (アセフェート, アルジカルブ, イプロジオン, イマザリル, カプタホール, チアベンダゾール, メタミドフォス及びプロパモカルブは 50 µg/mL, アセタミプリド, イミベンコナゾール代謝物, イプロジオン代謝物, オキサミル, トリシクラゾール及びバミドチオンは 100 µg/mL)の濃度に調製し, 冷凍庫(-30℃)に保存した.

乾燥剤:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  と  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  の 7 : 1(w/w)混合物.

### 3. 装置

SFE 装置: Hewlett Packard社製 HP7680T.

GC/MS: Hewlett Packard社製ガスクロマトグラフ HP6890 (オートサンプラー HP7683 付)及び同社製質量分析計 HP5973 を使用した.

ホモジナイザー: マルチブレンダーミル(株)日本精機製作所製)

### 4. SFE 操作条件

最終的な SFE 条件を以下に示した.

$\text{CO}_2$  密度: 0.70 g/mL, 抽出温度: 40℃, 圧力: 115 bar,  $\text{CO}_2$  流速: 3.0 mL/min, ダイナミックモディファイヤー: 2% (=0.06 mL/min) アセトン, 平衡化時間: 1 min, ダイナミック抽出時間: 25 min, ノズル温度: 45℃, トラップ: 30-µm Hypersil octadecylsilane, トラップ温度: 30℃. トラップは MeCN 1.7 mL (1 mL/min, 30℃)で溶出しこれを SFE 抽出液とした. その後トラップはアセトン 3 mL (1 mL/min, 50℃), 続いて MeCN 3 mL (1 mL/min, 50℃)で洗浄及びコンディショニングを行った.

### 5. GC/MS 測定条件

GC カラム: J&W Scientific社製のキャピラリーカラム DB-5MS (内径 0.25 mm, 長さ 30 m, 膜厚 0.25 µm), ガードカラム: Agilent Technologies社製の不活性化キャピラリーカラム(内径 0.25 mm, 長さ 1.5 m), オープン温度: 50℃(1 min)→ 25℃/min → 125℃ → 10℃/min → 300℃(8.5 min) 注入口温度: 250℃, トランスファーライン温度: 300℃, キャリアーガス: ヘリウム(1 mL/min), 注入量: 2 µL, 注入方法: パルスドスプリットレス(注入時圧力 30 psi, ), イオン化電圧: 70 eV (EIモード), 測定モード: SIM(selected ion monitoring)モード(モニターイオンは表1参照), エレクトロンマルチプライヤ電圧: 2800 V.

### 6. 試験溶液の調製

試料とセライトを 1 : 1.2 で混合したもの 4.4g (試料 2.0 g 相当)をビーカーにとり, 乾燥剤 1.5 g を添加して混合したものを全量抽出管(7 ml)にとり SFE を行った. この時, 抽出管の両端に試料の微粒子による装置の目詰まりを防ぐために円形に切ったガラス繊維ろ紙 Whatman GF/F (Whatman社製)を置いた. 得られた SFE 抽出液は窒素気流で溶媒を除去した後, 残留物にアセトン 1 mL を加えて溶解しこれを試験溶液とした.

### 7. 添加回収実験

試料とセライトとの混合物に試料中 0.1 µg/g (アセフェート, アルジカルブ, イプロジオン, イマザリル, カプタホール, チアベンダゾール, メタミドフォス及びプロパモカルブは 0.5 µg/g, アセタミプリド, イミベンコナゾール代謝物, イプロジオン代謝物, オキサミル, トリシクラゾール及びバミドチオンは 1.0 µg/g)になるように農薬標準混液を添加し, 室温で 10分間放置して溶媒を揮散させてからよく混合したものを試料とした.

### 8. 定量

各試験溶液を GC/MS に注入し, 得られたピークの保持時間と面積から農薬を定性, 定量した. 定

量は絶対検量線法で行った。

## C. 研究結果

### 1. 試料調製法の検討

検討はすべてトマトを試料に用いて実施した。

#### 1-1 NaCl を用いた塩析による高極性農薬の回収率の改善

果実・野菜など水分を多く含む試料は、過剰な水のために、抽出流体の流れが阻害されたり、ノズルやトラップが詰まるなど装置が影響を受けるためそのままでは SFE が行えない。そのため、試料にセライトなどの珪藻土を添加して水を吸収させることがよく行われる。そこで、試料とセライトとを 1 : 1 で混合して SFE を行ったところ、アセフェート、メタミドフォス、アセタミプリド、バミドチオンなどの極性の高い農薬は全く回収されなかった。これらの農薬の水溶解度はそれぞれ 650000, 2000000, 4200 及び 4000000 mg/L と高いために、セライトに吸収された水に溶解して超臨界 CO<sub>2</sub> に分配されなかったためと考えられる。水層から有機溶媒を用いて極性の高い農薬を抽出する際には、水層に NaCl などを添加してその塩析効果により有機層への分配を促し抽出効率を上げる操作が行われる。そこで、SFE の場合にも NaCl を用いた塩析効果により抽出効率が上がるか検討した。試料とセライトの混合物に NaCl を重量比で試料の 1/6, 1/3 及び 1/2 量添加して回収率を求め、結果を図 1 に示した。図 1 の(a)にはアセフェート、メタミドフォス、アセタミプリド及びバミドチオンの結果を示したが、試料重量の 1/3 以上の NaCl を添加することでアセタミプリドとバミドチオンについては 80%以上回収されるようになり、SFE においても NaCl による塩析の効果が認められた。しかし、アセフェートとメタミドフォスについては水溶解度がバミドチオンより小さいにも関わらず NaCl の効果は全く認められなかった。アセフェート及びメタミドフォスのようなホスホロアミド系の農薬の場合は、セライトに吸着されることが知られており、これはセライト表面のシラノール基などの OH 基と水素結合を形成するためと考えられ

ている<sup>1)</sup>。このようにアセフェート及びメタミドフォスの場合は、水相への分配に加え、セライトとの相互作用により NaCl を添加したのみでは抽出されなかったものと思われる。また、NaCl を加えたときの他の農薬の挙動について図1の(b)に示したが、NaCl の増加に伴い回収率の減少が見られた。これは塩に農薬が吸着されたためと考えられ、このような現象は MgSO<sub>4</sub> や Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を用いた場合に、特に非極性農薬や中極性のマラチオンなどの農薬で報告されている<sup>2,3)</sup>。アセフェート及びメタミドフォスは NaCl を用いた塩析のみでは抽出することはできなかったことから、これらの農薬が分配しているセライト中の水を取り除けば農薬を超臨界 CO<sub>2</sub> へ分配させることができると考え、次に乾燥剤(drying agent)について検討した。

#### 1-2 乾燥剤の検討

SFE の試料調製のための乾燥剤としては、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub><sup>4,5)</sup>や MgSO<sub>4</sub><sup>2,6)</sup>などの塩が知られている。このほか一般的な乾燥剤としてはいくつかあるが、水和時に発熱したり、水和後に強アルカリや強酸性になったり、高価なものは使用に適さない。そのため、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> や MgSO<sub>4</sub> 以外の乾燥剤として CaSO<sub>4</sub> を選択した。このほか、一般的な乾燥剤ではないが、塩の無水物であれば水和による乾燥効果が期待できると考え CH<sub>3</sub>COONa, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 及び NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> の無水物について検討した。CaSO<sub>4</sub> 及び CH<sub>3</sub>COONa については、試料とセライトを 1 : 1 で混合し、これに試料を水 100%としたとき完全に水和するのに必要な量を添加して SFE 行い、アセフェートとメタミドフォスの回収率を予備的に検討したところ、効果が見られなかった。

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 及び NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> については、前者は1モル当たり最大 12 モルの水を水和できるのに対して、後者は 2 モルしか水和できない。そのため Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> のほうが乾燥能力が高いと思われるが、水に溶解したときの pH が約 9 と弱アルカリ性である。広範な種類の農薬を抽出する場合には、抽出時の pH はできるだけ中性の方が望ましいと考えられるので、両者の塩を混合して pH を調製した場

合について検討した。Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> と NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> の混合比は表 2 に示したように 10 : 1 ~ 1 : 1 の範囲及び Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 100% について検討した。試料 4g にセライト 4g を混合して、この混合物に試料 4g を水 100% としたとき、完全に水和するのに必要な量の Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 混合物(表 2)を添加して混合し、最終的に得られた混合物の 6g を用いて SFE を行い回収率を求めた。図 2 にはその結果を示した。NaCl を添加しても回収されなかったアセフェート及びメタミドフォスも Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 混合物の添加により 80% 以上回収された。バミドチオン及びアセタミプリドも添加により回収率が大幅に増加した。アセフェート、メタミドフォス及びセタミプリドでは、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> のみよりも Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> と NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> を 10 : 1 で混合した場合の方がより高回収率であり、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> の混合比が下がるに従って回収率が低下する傾向が見られた。しかしトリフルミゾールの様に Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> の混合比が 7 : 1 より小さい方が回収率が高い農薬もあったため、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> と NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> の混合比は 7 : 1 を選択した。この結果から、乾燥剤としては Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (7 : 1) 混合物を用いることとした。

また、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> と NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> の混合物の水溶液の pH は約 7 であり、また、これらの塩の組合せは緩衝作用があるため、トマトホモジネートの pH が約 4 であるにも関わらず混合物の pH は約 7 であった。柑橘類などでは試料の pH が 2 ~ 3 と低いものがあり、有機溶媒抽出をした場合でも塩基性の農薬では回収率が低下することが知られている<sup>7)</sup>。Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> と NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> の混合物を乾燥剤として用いれば、緩衝作用により試料の pH に影響されることがなく、抽出時の pH を中性に保ったまま SFE を行える利点がある。

### 1-3 試料、セライト及び乾燥剤の混合比の検討

#### 1-3-1 乾燥剤の混合比の検討

乾燥剤の最適な混合比を求めるため、試料 2g とセライト 2g の混合物に乾燥剤を無添加から試料の 2 倍量(4g)まで添加して回収率を求めたときの結果を図 3 に示した。図 3 の(a)にはアセフェート

など高極性農薬の結果を示した。いずれの農薬も乾燥剤が無添加の場合には低回収率であったが、乾燥剤の添加により回収率の増加が見られた。バミドチオン及びアセタミプリドは試料の 1/4 量(0.5g)の添加から回収率の大幅な増加が見られ、バミドチオンでは 1/4 量から等量(2g)の添加まで、アセタミプリドでは 1/2 量(1g)から等量の添加までほぼ一定の回収率を示し、それ以上の乾燥剤の添加では回収率が減少した。アセフェート及びメタミドフォスは同じ挙動を示し、3/4 量(1.5g)の添加で回収率が大幅に上昇し、等量から 1.5 倍量(3g)の添加までほぼ一定となり、2 倍量(4g)の添加では回収率が減少した。アセフェート及びメタミドフォスでは試料 2g に対して乾燥剤を 1.5 g 添加したときに回収率が急激な上昇を示したが、この量は試料を水 100% としたときこれを水和するのに必要な乾燥剤の量である 1.46g とよく一致していた。このことから、試料混合物中の水が乾燥剤に水和されて除かれたことにより、水相に溶けていたアセフェート及びメタミドフォスが超臨界 CO<sub>2</sub> に分配するようになったものと思われる。

図 3 の(b)には他の極性の低い農薬の挙動について示したが、NaCl の場合と同様に乾燥剤の添加により回収率の減少が見られた。回収率は乾燥剤の添加量の増加とともに減少したが、試料 2g に対して乾燥剤 1.5g 以上では減少は緩やかになった。このように塩を乾燥剤に用いた場合には、共通して極性の低い農薬の回収率低下が見られる。

以上の結果から用いる乾燥剤の量は、他の農薬の回収率低下をできるだけ抑え、アセフェート及びメタミドフォスが回収される必要最小量が望ましい。よって、アセフェート及びメタミドフォスの回収率が大きな上昇を示した量、即ち試料 2g に対して乾燥剤 1.5g を用いることとした。

#### 1-3-2 セライトの混合比の検討

次にセライトの混合比について検討した。試料 2g に対してセライトを 2, 2.2, 2.4 及び 3g 添加して混合し、これに乾燥剤 1.5g を加えて試料混合物を調製し回収率を求めた。図 4 の(a)にはアセフェ

ート, メタミドフォス, アセタミプリド, バミドチオンに加え, これまでの検討で回収率の低かったイマザリル, チアベンダゾール及びトリシクラゾールの結果も示した. アセタミプリド及びバミドチオンではセライト 2.4g 以上の添加で回収率がやや減少したが, アセフェートなどその他の農薬では 2.4g 添加で回収率が最大になった. このとき他の極性の低い農薬ではセライトを増量しても回収率に大きな変化は見られなかった(図 4 の(b)).

以上の結果から, 試料 2g に対してセライト 2.4 g を用いることとし, 最終的に試料, セライト及び乾燥剤の混合比は, 試料:セライト:乾燥剤 = 2 : 2.4 : 1.5 を用いることとした.

## 2. SFE 条件の検討

トマトを試料として, 確立した試料調製法を用いて試料混合物を調製し, 最適な SFE 条件の検討を実施した.

### 2-1 CO<sub>2</sub> 密度の検討

CO<sub>2</sub> 密度の影響を検討するために, 密度 0.6 , 0.7 及び 0.85 g/mL における農薬の回収率を求めた. 図 5 の(a)に示したアセフェートなどの高極性農薬では, CO<sub>2</sub> 密度の上昇とともに回収率が上昇したが, 0.7 g/mL 以上では回収率の増加は大きくなかった. また図 5 の(b)には極性の低い農薬の結果を示したが, 回収率は CO<sub>2</sub> 密度の影響をあまり受けなかった. 0.8 g/mL 以上の CO<sub>2</sub> 密度を用いても回収率の増加効果は少なく, むしろ農薬以外の夾雑物の抽出量が増加するため CO<sub>2</sub> 密度は 0.7 g/mL を選択した.

### 2-2 抽出温度の検討

抽出温度の影響を検討するため, 40 , 50 , 60 及び 70 °C における回収率を求め, 結果を図 6 に示した. 図 6 の(b)に示したように BHC 類など極性の低い農薬では抽出温度の影響はあまり見られなかったが, 70 °C では回収率がやや減少した. また, 図 6 の(a)に示したようにアセフェート, バミチオン, アセタミプリドなども抽出温度の影響をあまり受

けなかったが, チアベンダゾールは温度上昇とともに回収率が上昇し, メタミドフォスでは 60 °C 以上で回収率が減少した. 従って, 抽出温度は回収率の低下が見られない 40 °C ~ 50 °C が良いと思われたが, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> の水和物の融点が 34 ~ 35 °C であることから, 高温では水和物が融解し乾燥の効果がなくなることが予想されたため, 装置の最低設定温度である 40 °C を選択した.

### 2-3 CO<sub>2</sub> 流速及び抽出時間の検討

CO<sub>2</sub> 流速及び抽出時間について検討するために, CO<sub>2</sub> 流速 - 抽出時間の組合せが 2 mL/min - 20 min , 3 mL/min - 20 min , 3 mL/min - 30 min 及び 4 mL/min - 30 min の 4 つの条件について回収率を求めた. その結果, 図 7 の(a)に示した農薬では, 流速を 2 mL/min から 3 mL/min に上げ, 抽出時間を 20 min から 30 min に延長することによって回収率の増加が見られた. 一方, 図 7 の(b)に示した農薬では, 流速を 3 mL/min に上げても回収率に変化は見られず, 抽出時間を 30 min に延長するとかえって回収率が減少した. そのため, 両者の中間の条件である CO<sub>2</sub> 流速 3 mL/min, 抽出時間 25 min を選択した.

### 2-4 モディファイヤーの検討

#### 2-4-1 モディファイヤーの種類検討

これまでの検討でもチアベンタゾールの回収率は低く, また乾燥剤の添加により回収率が低下した有機塩素系など極性の低い農薬の回収率は依然やや低かった. そこで, これらの農薬の回収率の改善を図るため有機溶媒のモディファイヤーの添加について検討した. 添加方法は, 超臨界 CO<sub>2</sub> に HPLC ポンプでモディファイヤーを添加して混合する方法(ダイナミックモディファイヤー)を用いた. まず, 最適なモディファイヤーの種類を検討するために, MeOH, EtOH, IPA, EtOAc, MeCN 及びアセトンを用いて, CO<sub>2</sub> 流速 3 mL/min に対して 1%(v/v)濃度(=0.03 mL/min)で添加して検討した. 図 8 の(a)にはアセフェートなど高極性農薬の結果を示したが, 多くはアセトンを用いたときに回収率

が最も高くなったが、チアベンダゾールでは EtOH あるいは MeOH を用いたときに回収率が高くなった。図 8 の(b)には有機塩素系農薬の結果を示したが、アセトン、MeCN 及び EtOAc で回収率が高かった。以上の結果から、有機塩素系農薬にも効果があり、また EtOH あるいは MeOH よりは効果が落ちるもののチアベンダゾールにも相当の効果が見られたアセトンをモディファイヤーに選択した。

#### 2-4-2 モディファイヤーの濃度の検討

次にモディファイヤーとして添加するアセトンの濃度について検討した。0 ~ 5%(v/v)の濃度範囲で検討した結果、図 9 の(a)に示したように、アセフェートなどの高極性農薬では、1 ~ 3%までほぼ一定の回収率であった。図 9 の(b)には有機塩素系農薬の結果を示したが、2%まで回収率が増加し、それ以上では減少する傾向が見られた。以上の結果から、アセトン濃度は有機塩素系農薬で最も回収率が高くなった2%(= 0.06 mL/min)を用いることとした。

### 3. 添加回収実験

確立した方法を用いてトマトを試料として添加回収実験を行った。表 3 には回収率が 70%未満だった農薬を原因別にまとめて示した。クロロタロニル、カプタホール及びジクロフルアニドの低回収率は、作物成分による分解が原因と思われる。また、ジコホールは GC での分解が原因と思われ、ジコホールの分解物である 2,4-Dichlorobenzophenone の回収率は 135%であったことから抽出はされていると考えられる。ピフェニル、ヘキサクロロベンゼン、ジクロロボス及びブチレートは揮発性が高いため、SFE 抽出液の溶媒を窒素気流で除去してアセトンに置換する操作の際に損失したと思われる。メブレンは妨害ピークのために正確な定量ができず相対標準偏差(RSD)も大きくなった。その他、アミトラズ、プロパモカルブ及び 2,4-ジクロロアニリンは塩基性で抽出される物質であるため、抽出時の pH の問題と思われる。表 4 には今回検討した代謝物を含む 159 農薬のトマトからの回収率の

すべての結果を示したが、低回収率だった 12 農薬以外の 147 農薬は 70 ~ 120%の良好な回収率が得られ、RSD も大部分は 5%以内の精度の良い結果が得られた。

### D. 考察

#### 1. 試料調製法について

果実・野菜のように水分含量が高い試料では、セライトなどの珪藻土に水分を保持させただけではアセフェートやメタミドフォスなどの高極性農薬は抽出されず、そのため乾燥剤により更に水を除く必要があった。これまでに Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> や MgSO<sub>4</sub> などの塩を乾燥剤に用いた例はあったが、今回の検討で、無水リン酸水素二ナトリウムと無水リン酸二水素ナトリウムの混合物も乾燥剤として効果があることがわかった。Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> や MgSO<sub>4</sub> は中性塩のため、試料に添加しても試料の pH は変化しないが、無水リン酸水素二ナトリウムと無水リン酸二水素ナトリウムの混合物は緩衝作用があるため、柑橘類などのように試料の pH が低い場合でも抽出時の pH をほぼ中性に保つことができる。抽出時の pH が酸性あるいは塩基性にかたよっていると、塩基性の農薬あるいは酸性の農薬の抽出効率が低下するため、できるだけ広範な農薬を抽出するためには抽出時の pH は中性の方が良い。そのため、緩衝作用を持つ無水リン酸水素二ナトリウムと無水リン酸二水素ナトリウムの混合物を乾燥剤として使用するほうが中性塩の乾燥剤を使用するよりも利点があると思われる。

#### 2. SFE 条件について

乾燥剤に塩を用いる方法では、高極性農薬の回収率は改善するが、極性の低い農薬に対しては塩への吸着により回収率が低下することが Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> や MgSO<sub>4</sub> を用いた例で報告されているが、今回用いた無水リン酸水素二ナトリウムと無水リン酸二水素ナトリウムの混合物でも同様の現象が見られた。そのため、極性の低い農薬の回収率を改善するために、モディファイヤーの使用について検討したところ、アセトンに効果が見られた。これにより、

無水リン酸水素二ナトリウムと無水リン酸二水素ナトリウムの混合物を乾燥剤に用いても、極性の低い農薬の回収率低下を最小限に抑えることができた。その結果、トマトを用いた添加回収実験で代謝物を含む 159 農薬のうち 147 農薬で 70 ~ 120% の良好な回収率が得られた。

#### E. 結論

果実・野菜中の残留農薬の SFE を用いた多成分分析法について、代謝物を含む 159 農薬(有機塩素系農薬 26, ピレスロイド系農薬 14, カーバメート系農薬 18, 有機リン系農薬 45, その他 53) を用いて検討した。その結果、アセフェートやメタミドフォスなどの高極性農薬の抽出には、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 / \text{NaH}_2\text{PO}_4$  (7 : 1)混合物を乾燥剤として用いる方法が有効であることを見いだした。また、SFE 用の試料調製法としては、試料とセライトと乾燥剤を 2 : 2.4 : 1.5 の割合で混合することにより良好な結果が得られた。更に、アセトンをモディファイヤーに用いることにより、乾燥剤の添加により回収率の低下する極性の低い農薬の回収率の改善を図ることができた。確立した方法で得られた SFE 抽出液は、

有機溶媒抽出法に比較して夾雑物が少なくクリーンアップ操作なしで GC/MS で定量することができ、また、試験溶液の調製時間も 1 検体当たり 1 時間程度で、有機溶媒抽出法より操作が大幅に簡略化されかつ分析時間が短縮された。

#### 【参考文献】

- 1) T.S.Oostdyk, R.L. Grob, J.L. Snyder, M.E.P. McNally, J. Chromatogr. Sci. 31 (1993) 177-182.
- 2) M.D. Burford, S.B. Hawthorne, D.J. Miller, J. Chromatogr. A 657 (1993) 413-427.
- 3) S.J. Lehotay, J. Chromatogr. A 785 (1997) 289-312.
- 4) R. Stefani, M. Buzzi, R. Grazi, J. Chromatogr. A 782 (1997) 123-132.
- 5) C. Nerin, R. Battle, J. Cacho, J. Chromatogr. A 795 (1998) 117-124.
- 6) K.I. Eller and S.J. Lehotay, Analyst 122 (1997) 429-435.
- 7) Y. Akiyama, M. Yano, T. Mitsuhashi, N. Takeda, M. Tsuji, J. Food Hyg. Soc. Japan 37 (1996) 351-362.

表 1 農薬の保持時間( $t_r$ )及び定量用マス( $m/z$ )

Pesticide	$t_r$ (min)	$m/z$ (amu)	Pesticide	$t_r$ (min)	$m/z$ (amu)	Pesticide	$t_r$ (min)	$m/z$ (amu)
Organochlorine pesticides (26)			Organophosphorus pesticides (45)			Other pesticides (56)		
Aldrin	14.69	260.8	Acephate	8.79	136.0	Acetamidiprid	18.80	126.0
alpha-BHC	11.79	218.9	Azinphos-ethyl	20.27	160.0	Amitraz	19.87	293.2
bata-BHC	12.30	218.9	Azinphos-methyl	19.68	160.0	Benalaxyl	17.78	148.1
gamma-BHC	12.48	218.9	Bromophos-ethyl	15.81	302.8	Benfuresate	13.48	163.0
delta-BHC	13.05	218.9	Butamifos	16.14	286.0	Biphenyl	8.33	154.1
Captafol	18.49	79.0	Cadusafos	11.58	158.9	Bitertanol	20.67	170.1
Captan	15.61	79.0	(E)-Chlorfenvinphos	15.20	266.9	Bromopropylate	18.99	183.0
Chlorobenzilate	17.16	250.9	(Z)-Chlorfenvinphos	15.41	266.9	Chinomethionat	15.93	233.9
Chlorothalonil	12.80	265.9	Chlorpyrifos	14.56	198.9	Cyproconazole	16.94	222.0
Chlorthal-dimethyl	14.66	300.9	Chlorpyrifos-methyl	13.63	285.9	Dichlofluanid	14.41	223.9
p,p'-DDD	17.34	235.0	Cyanophos	12.55	109.0	2,4-dichloroaniline	7.75	160.9
p,p'-DDE	16.54	245.9	Diazinon	12.65	179.1	Dicloran	12.04	176.0
o,p'-DDT	17.39	234.9	Dichlorvos	6.75	109.0	Difenoconazole	23.14	323.0
p,p'-DDT	18.05	234.9	Dimethoate	12.04	87.0	Dimethipin	12.29	54.1
Dicofol	19.18	251.0	(Z)-Dimethylvinphos	14.61	294.9	Diphenylamine	10.97	169.1
Dieldrin	16.69	262.8	Dioxabenzofos	11.44	215.9	Fenarimol	20.14	138.9
alpha-Endosulfan	16.17	240.9	Disulfoton	12.90	88.0	Flusilazole	16.63	233.0
beta-Endosulfan	17.29	194.9	Edifenphos	17.92	310.0	Flutolanil	16.27	173.0
Endosulfan sulfate	18.01	271.8	EPN	18.96	169.0	Fosthiazate	15.04	194.9
Endrin	17.09	262.8	Ethion	17.32	152.9	Imazalil	16.37	215.0
Heptachlor	13.97	271.7	Ethoprophos	11.03	157.9	Imibenconazole	24.93	125.0
Heptachlor epoxide	15.44	352.8	Erimfos	12.99	292.0	Imibenconazole metabolite	16.71	235.0
Hexachlorobenzene	11.86	283.8	Fenitrothion	14.25	277.0	Iprodione	18.75	313.9
Methoxychlor	19.07	227.1	Fensulfothion	17.20	292.0	Iprodione metabolite	19.42	186.8
Propanil	13.56	161.0	Fenthion	14.66	278.0	Lenacil	17.98	153.0
Quintozene	12.36	236.8	Isofenphos	15.38	213.0	Mefenacet	19.83	192.0
Pyrethroid pesticides (14)			Isofenphos oxon	14.74	228.9	Mepronil	17.57	119.1
Acrinathrin	20.03	181.0	Isoxathion	16.89	105.0	Metalaxyl	13.91	206.1
Bifenthrin	18.90	181.1	Malaoxon	13.67	127.0	Methoprene	15.68	111.0
Cyfluthrin	21.33	226.0	Malathion	14.42	173.1	Metolachlor	14.53	162.1
Cyhalothrin	19.88	197.0	Methamidophos	6.61	94.0	Metribuzin	13.63	198.0
Cypermethrin	21.66	162.9	Methidathion	15.83	144.9	Myclobutanil	16.60	179.0
Deltamethrin	23.54	181.0	Parathion	14.72	291.0	Paclobutrazol	16.00	236.0
Ethofenprox	21.92	163.0	Parathion-methyl	13.76	262.9	Pendimethalin	15.20	252.1
Fenpropathrin	19.10	181.1	Phenthoate	15.52	273.9	2-Phenylphenol	9.80	170.1
Fenvalerate	22.57	167.0	Phosalone	19.59	181.9	Piperonyl butoxide	18.42	176.1
Flucythrinate	21.73	199.0	Phosmet	18.92	160.0	Pretilachlor	16.38	238.1
Fluvalinate	22.68	250.0	Pirimiphos-methyl	14.18	290.0	Procymidone	15.60	96.1
Halfenprox	21.66	262.9	Prothiofos	16.37	309.0	Propargite	18.31	135.1
Permethrin	20.84	183.0	Pyraclufos	20.39	360.0	Propiconazole	18.01	174.9
Tefluthrin	12.91	177.0	Quinalphos	15.55	146.0	Pyridaben	20.90	147.1
Carbamate pesticides (18)			Terbufos	12.55	231.0	(E)-Pyrifenox	15.91	261.9
Aldicarb	3.86	115.0	Thiometon	11.93	88.0	(Z)-Pyrifenox	15.41	261.9
Bendiocarb	11.40	151.0	Tolclofos-methyl	13.78	264.9	Pyrimidifen	22.35	184.0
Butylate	8.72	146.0	Vamidothion	15.97	145.0	Pyriproxyfen	19.74	136.0
Carbaryl	13.89	144.0			Silafluofen	22.07	258.0	
Carbofuran	12.13	164.1			Tebuconazole	18.31	125.0	
Chlorpropham	11.25	213.0			Tebufenpyrad	19.20	333.1	
Diethofencarb	14.57	151.0			Thenylchlor	18.22	127.0	
EPTC	7.94	86.0			Thiabendazole	15.65	201.0	
Esprocarb	14.43	222.1			Triadimefon	14.78	57.1	
Ethiofencarb	13.34	107.0			Triadimenol	15.62	112.1	
Fenobucarb	10.69	121.0			Tricyclazole	16.49	188.9	
Isoprocarb	9.91	121.0			Triflumizole	15.62	278.0	
Methiocarb	14.30	168.0			Trifluralin	11.27	306.1	
Oxamyl	9.85	72.0			Vinclozolin	13.69	212.0	
Pirimicarb	13.15	166.1						
Propamocarb	8.55	58.0						
Propoxur	10.71	110.0						
Thiobencarb	14.61	100.1						



表 2  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  と  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  の混合比と水溶液の pH

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 : \text{NaH}_2\text{PO}_4$ の混合比	X*	pH**
1 : 1	4.39	6
2 : 1	3.59	6-7
4 : 1	3.13	7
7 : 1	2.93	7
10 : 1	2.84	7-8
1 : 0	2.63	9

\* 試料4 gを水 100%としたとき, 完全に水和するのに必要な  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ - $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  混合物の量(g).

\*\*  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ - $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  混合物を少量の水に溶解して pH 試験紙で測定したときの pH.

表 3 トマトからの添加回収実験で低回収率だった農薬

Pesticides	Recovery (%)	
	Mean	RSD
作物成分による分解		
Chlorothalonil	32.8	70.8
Captafol	56.6	26.0
Dichlofluanid	56.8	16.7
GCでの分解		
Dicofol	5.4	141.4
(2,4-Dichlorobenzophenone)	135.1	0.9
揮発性が高い		
Biphenyl	38.2	5.6
Hexachlorobenzene	56.2	2.2
Dichlorvos	64.9	40.8
Butylate	65.1	3.6
妨害		
Methoprene	48.5	141.4
その他		
Amitraz	1.0	6.6
Propamocarb	1.2	141.4
2,4-Dichloroaniline	52.1	9.9

表4 トマトからの添加回収率

Pesticides	Recovery (%)		Pesticides	Recovery (%)		Pesticides	Recovery (%)	
	Mean	RSD		Mean	RSD		Mean	RSD
Organochlorine pesticides (26)			Organophosphorus pesticides (45)			Other pesticides (56)		
Aldrin	76.3	2.3	Acephate	118.5	4.8	Aceamtirid	110.8	11
alpha-BHC	71.0	4.9	Azinphos-ethyl	91.0	1.7	Amitraz	1.0	6.6
beta-BHC	84.4	3.7	Azinphos-methyl	111.8	0.0	Benalaxyl	88.9	3.1
delta-BHC	87.7	4.2	Bromophos-ethyl	88.5	3.0	Benfuresate	94.7	3.3
BHC-gamma	77.7	6.8	Butamifos	92.0	3.5	Biphenyl	38.2	5.6
Captafol	56.6	26	Cadusafos	96.5	0.5	Bitertanol	103.7	0.4
Captan	73.2	21	(E)-Chlorfenvinphos	95.3	3.1	Bromopropylate	88.9	1.2
Chlorobenzilate	87.9	3.4	(Z)-Chlorfenvinphos	92.9	2.6	Chinomethionat	78.2	12
Chlorothalonil	32.8	71	Chlorpyrifos	88.7	2.8	Cyproconazole	95.6	0.0
Chlorthal-di methyl	75.8	6.8	Chlorpyrifos-methyl	83.2	5.5	Dichlofluanid	56.8	17
p,p'-DDD	84.5	3.6	Cyanophos	98.3	1.4	2,4-Dichloroaniline	52.1	9.9
p,p'-DDE	89.9	2.4	Diazinon	90.2	0.4	Dicloran	118.4	1.3
o,p'-DDT	84.2	2.7	Dichlorvos	64.9	41	Difenoconazole	88.9	0.7
p,p'-DDT	88.7	3.1	Dimethoate	110.8	9.5	Dimethipin	112.0	8.9
Dichlorobenzophenone	135.1	0.9	(Z)-Dimethylvinphos	97.1	5.5	Diphenylamine	92.0	4.7
Dicofol	5.4	141	Dioxabenzofos	106.1	5.1	Fenarimol	88.1	1.3
Dieldrin	81.0	4.3	Disulfoton	78.9	5.3	Flusilazole	92.8	2.8
alpha-Endosulfan	79.2	5.4	Edifenphos	94.0	6.2	Flutolanil	102.9	2.0
beta-Endosulfan	79.1	5.5	EPN	87.7	6.1	Imazalil	94.6	4.2
Endosulfan sulfate	80.5	5.6	Ethion	94.6	4.1	Imibenconazole	110.2	2.1
Endrin	77.8	5.4	Ethoprophos	100.2	1.7	Imibenconazole metabolit	108.4	7.1
Heptachlor	76.0	3.6	Etrinfos	88.5	3.9	Iprodione	101.0	4.1
Heptachlor epoxide	74.9	4.5	Fenitrothion	100.0	10	Iprodione metabolite	91.5	28
Hexachlorobenzene	56.2	2.2	Fensulfothion	107.0	1.7	Lenacil	107.9	3.5
Methoxychlor	78.4	3.0	Fenthion	81.9	5.1	Mefenacet	89.3	0.4
Quintozene	72.1	3.5	Fosthiazate	113.2	0.0	Mepronil	100.4	2.7
Pyrethroid pesticides (14)			Isofenphos	98.0	1.5	Metalaxyl	110.6	3.4
Acrinathrin	107.3	0.3	Isofenphos oxon	108.0	3.0	Methoprene	48.5	141
Bifenthrin	112.0	0.6	Isoxathion	94.6	1.9	Metolachlor	91.1	3.5
Cyfluthrin	103.2	0.9	Malaoxon	114.9	2.6	Metribuzin	84.5	4.8
Cyhalothrin	104.8	4.6	Malathion	102.1	6.2	Myclobutanil	92.9	2.7
Cypermethrin	100.7	0.7	Methamidophos	118.1	0.9	Paclbutrazol	113.4	4.2
Deltamethrin	101.8	0.6	Methidathion	103.4	5.2	Pendimethalin	88.3	4.3
Ethofenprox	91.3	0.2	Parathion	98.7	3.1	2-Phenylphenol	113.8	0.0
Fenpropathrin	95.6	1.7	Parathion-methyl	107.7	6.5	Piperonyl butoxide	94.9	1.5
Fenvalerate	96.5	0.4	Phenthoate	74.8	5.7	Pretilachlor	87.9	2.2
Flucythrinate	98.5	0.5	Phosalone	92.3	2.9	Procymidone	80.7	6.2
Fluvalinate	99.8	0.1	Phosmet	112.2	3.0	Propanil	113.5	1.7
Halfenprox	99.1	0.1	Pirimiphos-methyl	88.9	1.4	Propargite	95.9	2.2
Permethrin	96.3	0.3	Prothiofos	90.9	3.5	Propiconazole	92.4	3.5
Tefluthrin	104.1	0.6	Pyraclofos	111.2	2.4	Pyridaben	92.1	0.1
Carbamate pesticides (18)			Quinalphos	85.6	5.2	(E)-Pyrifenox	88.6	4.8
Aldicarb	98.6	6.6	Terbufos	88.4	2.3	(Z)-Pyrifenox	90.7	4.5
Bendiocarb	109.4	0.1	Thiometon	84.8	9.0	Pyrimidifen	89.3	0.1
Butylate	65.1	3.6	Tolclofos-methyl	79.7	3.9	Pyriproxyfen	83.6	2.3
Carbaryl	117.8	0.7	Vamidothion	112.9	6.3	Silafluofen	93.1	0.8
Carbofuran	117.0	2.4				Tebuconazole	94.7	1.0
Chlorpropham	107.9	2.4				Tebufenpyrad	91.5	0.4
Diethofencarb	76.1	14				Thenylchlor	90.1	2.4
EPTC	70.5	1.0				Thiabendazole	85.4	11
Esprocarb	87.0	1.8				Triadimefon	97.2	2.2
Ethiofencarb	110.7	8.5				Triadimenol	112.7	2.7
Fenobucarb	105.6	1.6				Tricyclazole	109.5	8.8
Isoprocarb	108.1	0.3				Triflumizole	106.4	5.2
Methiocarb	116.0	4.5				Trifluralin	89.1	0.7
Oxamyl	99.9	23				Vinclozolin	81.6	5.9
Pirimicarb	104.6	1.6						
Propamocarb	1.2	141						
Propoxur	112.6	2.5						
Thiobencarb	83.0	4.4						

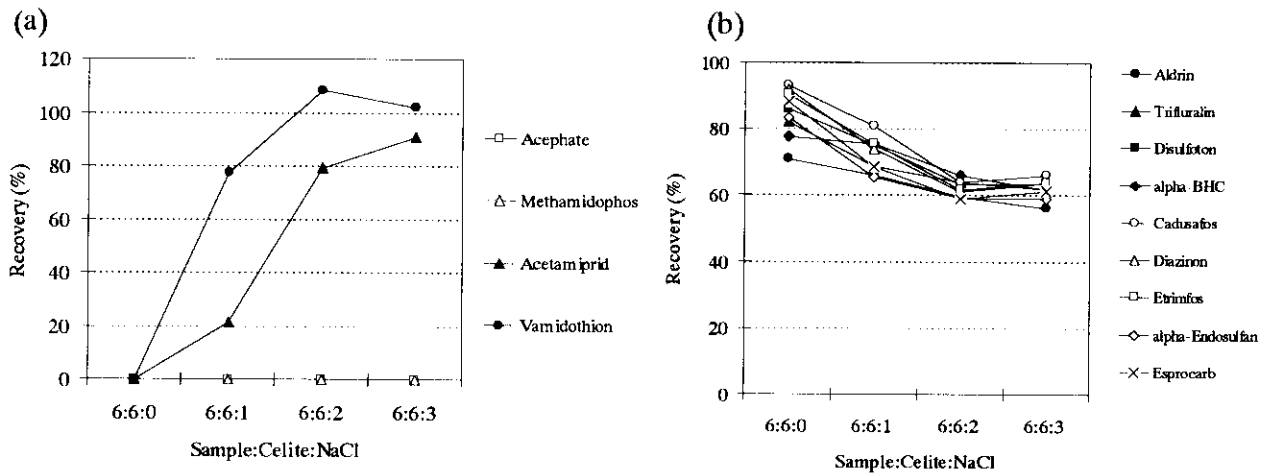


図1 試料混合物中の NaCl 量の影響

SFE 条件:  $\text{CO}_2$  density = 0.8 g/mL, extraction temp. = 50°C,  $\text{CO}_2$  flow rate = 2 mL/min, static extraction = 3 min, dynamic extraction = 20 min.

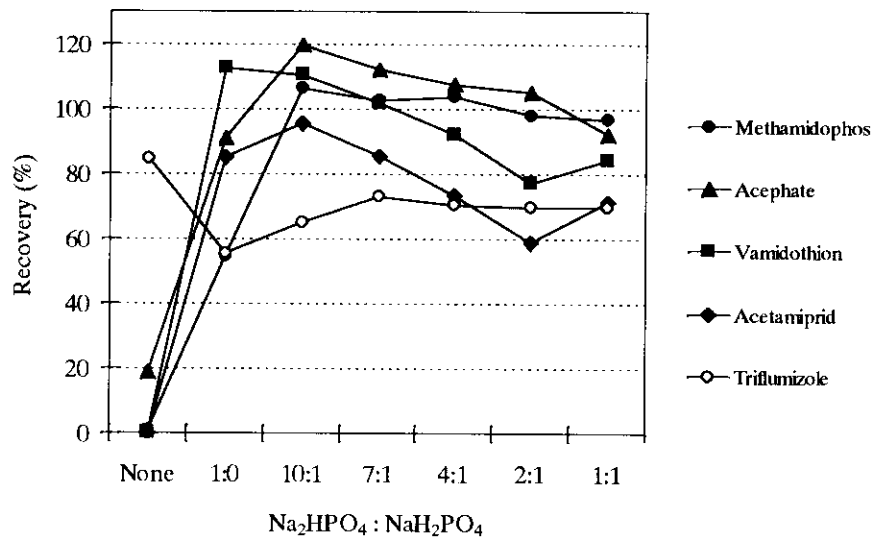


図2  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  と  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  の混合比の影響

SFE 条件:  $\text{CO}_2$  density = 0.8 g/mL, extraction temp. = 50°C,  $\text{CO}_2$  flow rate = 2 mL/min, static extraction = 3 min, dynamic extraction = 20 min.

試料: セライト:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  :  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  混合物 = 4g : 4g : X (X: 表 2 に示した量)

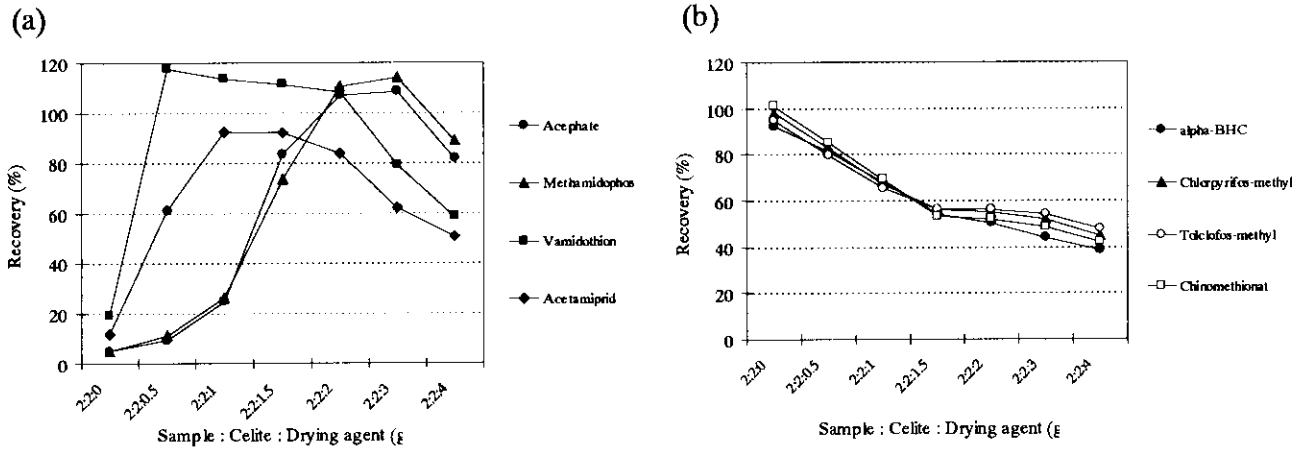


図3 乾燥剤の混合比の影響

SFE 条件:  $\text{CO}_2$  density = 0.7 g/mL, extraction temp. =  $40^\circ\text{C}$ ,  $\text{CO}_2$  flow rate = 3 mL/min, static extraction = 1 min, dynamic extraction = 20 min.  
Drying agent =  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  :  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (7 : 1) 混合物.

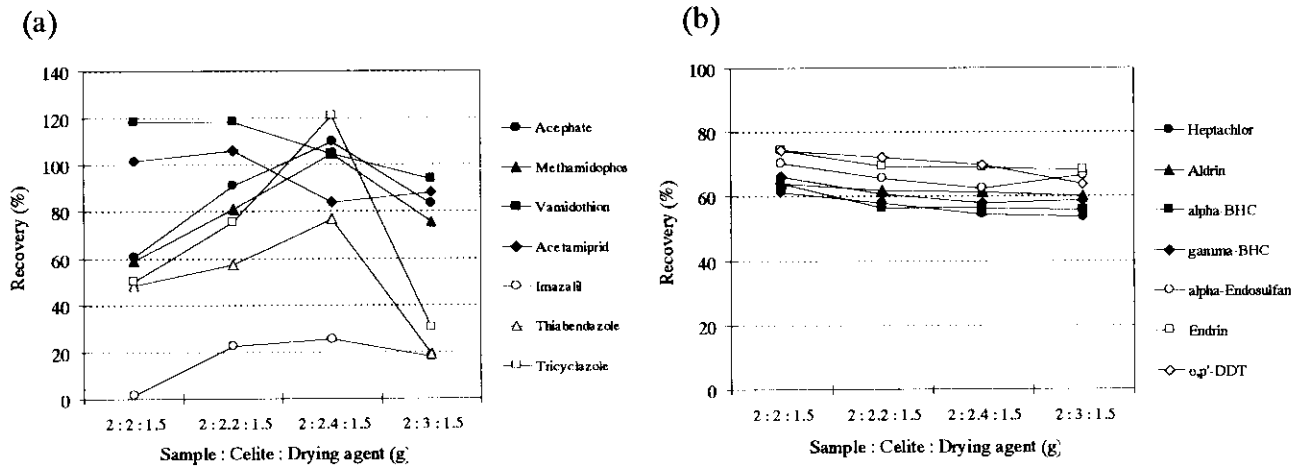


図4 セライトの混合比の影響

SFE 条件:  $\text{CO}_2$  density = 0.7 g/mL, extraction temp. =  $40^\circ\text{C}$ ,  $\text{CO}_2$  flow rate = 3 mL/min, static extraction = 1 min, dynamic extraction = 20 min.  
Drying agent =  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  :  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (7 : 1) 混合物.