

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

各種手法による残留農薬分析の効率化と精度向上に関する研究  
(1)超臨界流体抽出法の野菜・果実試料への適用

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)法の野菜・果実試料への適用について検討した。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, カルバメート系農薬 17, 有機リン系農薬 46, 有機窒素系農薬 48, その他 8)を用いて有機溶媒抽出法と添加回収率を比較するとともに, 実試料を用いて分析値の比較を行った。その結果, 添加回収率, 実試料の分析値ともに一部の農薬を除き両分析法でほぼ同じ結果が得られた。SFE 法は1検体当たりの抽出時間が1時間程度であり, 有機溶媒抽出法より試験溶液の調製時間が大幅に短縮された。また, SFE 法で得られた抽出液は有機溶媒抽出法に比較して夾雑物が少なくそのまま GC/MS 測定が可能であり, 煩雑なクリーンアップ操作を省略することができるため分析操作が大幅に簡略化された。更に SFE 装置を用いることにより抽出操作の自動化が可能となるため分析の精度向上とともに個人差の低減が期待される。

### 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

現在 200 種以上の農薬について農作物に対する残留農薬基準が設定されており, その数は今後更に増加することが予定されている。残留農薬のスクリーニング分析法としては厚生省生活衛生局長通知法<sup>1)</sup>があるが, 今日の急激な食品輸入量の増加と検査項目の増加に対して既存の試験法だけで対応することは困難であり, 食品衛生行政の現場ではより簡便で信頼性の高い効率的なスクリーニング法の開発が必要とされている。

一方, 有機溶媒抽出に代わる方法として注目されている SFE は液体より高い浸透性と気体より高い溶解力を有する超臨界状態の流体を抽出媒体に使用する抽出手段である。従来の有機溶媒抽出法では, 夾雑成分が多いため抽出液のクリーンアップに多くの手間と時間を要したが, SFE 法は対象物質の選択的抽出が可能であるためクリーンア

ップ操作の大幅な簡略化が可能となる。そのため, 分析時間の大幅な短縮が期待されるとともに抽出操作の自動化が可能のため, 分析業務の効率化・精度向上に大きく貢献するものと期待される。

我々はこれまでに残留農薬分析の効率化・精度向上を図るために, 野菜・果実試料に対する SFE 法の開発を行ってきた。そこで本年度は確立した SFE 法の野菜・果実試料に対する実用性について検討した。検討に当たっては, 添加回収実験による回収率を有機溶媒抽出法と比較するとともに, 実試料を用いて分析値を比較した。

### B. 研究方法

#### 1. 試料

東京都内の小売店で購入したものを, 細切後磨砕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, メタノール(MeOH), シクロヘキサン, 塩化ナトリウム(NaCl)及び無水硫酸ナトリウム(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)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。無水リン酸水素二ナトリウム( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )、無水リン酸二水素ナトリウム( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )、リン酸水素二カリウム( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )、リン酸二水素カリウム( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )、無水酢酸ナトリウム及びトリエチルアミン(TEA)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。

ガラス繊維ろ紙: Whatman GF/F (Whatman社製)。

カートリッジミニカラム: Sep-Pak Plus Silica (690 mg, Waters社製)

リン酸緩衝液(1 M, pH 7.0):  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  104.5 g と  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  61.2 g を水約 500 mL で溶解し、1 mol/L 塩酸または 1 mol/L NaOH で pH 7.0 に調製し、メスフラスコで水を加えて 1000 mL とした。

農薬標準品: いずれも和光純薬工業(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。なお、アルジカルブはGC注入時に容易に分解するため、分解物を測定した。

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 °C)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, メタミドホ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 2, イプロジオン代謝物, 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 °C)に保存した。

乾燥剤:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (無水) と  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (無水) 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: ポリロン(KINEMATICA AG 社製)

濃縮装置: Turbo Vap 500 (Zymark 社製)

### 4. SFE 操作条件

$\text{CO}_2$  密度: 0.80 g/mL, 抽出温度: 50 °C, 圧力: 214 bar,  $\text{CO}_2$  流速: 3.0 mL/min, モディファイヤー: MeOH (0.25 mL), 平衡化時間: 1 min, 動的抽出時間: 40 min, ノズル温度: 55 °C, プレノズルフィルター温度: 55 °C, トラップ: Hypersil octadecylsilane (30 µm) トラップ温度: 30 °C。

トラップは MeCN 1.7 mL (2 mL/min, 55 °C) で溶出しこれを SFE 抽出液とした。その後トラップは 4% TEA/アセトン 4 mL (2 mL/min, 50 °C) 続いて MeCN 2 mL (2 mL/min, 50 °C) で洗浄及びコンディショニングを行った。

### 5. GPC クリーンアップ

GPC 装置: ポンプ LC-6A, フラクションコレクター FRC-10A, システムコントローラー SCL-10A, オートインジェクター SIL-10A, 検出器 PD-6AV (いずれも島津製作所製)を用いた。

GPC 条件: 流速: 5.0 mL/min, 注入量: 4.0 mL, カラム温度: 室温, カラム: CLNpak EV-2000 [CLNpak EV-G(20 mm i.d.× 100 mm) + CLNpak EV-2000(20 mm i.d.× 250 mm)](昭和電工(株)製), 移動相: アセトン/シクロヘキサン (3 : 7), 分取範囲: 12 ~ 27 min (60 mL ~ 135 mL)

### 6. 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 °C(1 min)→ 25 °C/min → 125 °C → 10 °C/min → 300 °C (8.5 min) 注入口温度: 250 °C, トランスファーライン温度: 300 °C, 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 40 psi), イオン化電圧: 70 eV (EIモード), 測定方法: SIM(selected ion monitoring)モード(モニターイオンは表1参照)及び SCAN (スキャン範囲 50 ~ 550 amu, スキャンスピード 1.5 scans/sec) エレクトロンマルチプライヤ(EM)電圧: SIM 測定では 2800 V, SCAN 測定ではオートチューニングでの設定値を用いた。

### 7. 試験溶液の調製

試験方法の概略を図1に示した。有機溶媒抽

出法<sup>2)</sup>は、MeCN で抽出後塩析により水層を分離し、脱水・濃縮した後、カートリッジミニカラムでクリーンアップする方法を用いた。この時、葉緑素の多い試料の場合には GPC によるクリーンアップを追加した。

## 7.1 SFE 法

試料 10 g を乳鉢にとり、セライト 13 g を加えよく混合したのち、乾燥剤 5 g を加えて更に混合した。試料混合物 5 g (試料 1.79 g 相当)を底部にガラス繊維ろ紙を入れた抽出管にとり、試料上部にはガラス繊維ろ紙をのせた。無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 約 0.5 g を積層し、更にガラス繊維ろ紙をのせた。抽出管の底部のガラス繊維ろ紙にモディファイヤーとして MeOH 0.25 mL を添加し SFE を行った。得られた SFE 抽出液は窒素気流で溶媒を除去した後、アセトン 0.5 mL を加えて溶解しこれを試験溶液とした。

## 7.2 有機溶媒抽出法

### 7.2.1 葉緑素の少ない試料

試料 20 g に MeCN 50 mL を加え(かんきつ類には試料 10 g あたり 1 g の無水酢酸ナトリウムを添加)て、ホモジナイザーで 2 分間ホモジナイズした後、吸引ろ過した。残渣を MeCN 30 mL で洗浄後吸引ろ過し、ろ液を先のろ液に合わせた。抽出液にリン酸緩衝液 10 mL 及び NaCl 10 g を加え 3 分間振とうし、塩析により MeCN 層を水層から分離した。MeCN 層のうち試料 10 g 相当量を無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5 g)カラムに通過させて脱水し、濃縮装置で乾固しないように濃縮し、更に窒素気流下で乾固直前まで濃縮した。残留物をヘキサン-アセトン(1:1)混液を用いて超音波処理により溶解して 4 mL とした後、遠心分離(3000 rpm, 5 min)し、上澄液を得た。上澄液 2 mL(試料 5 g 相当)を Sep-Pak Plus Silica に負荷し、ヘキサン-アセトン(1:1)混液 20 mL で溶出した。溶出液は乾固直前まで濃縮し、アセトンで 1.4 mL とし試験溶液とした。

### 7.2.1 葉緑素の多い試料

試料 20 g にアセトニトリル 50 mL を加えて、ホモジナイザーで 2 分間ホモジナイズした後、吸引ろ過した。残渣を MeCN 30 mL で洗浄後吸引ろ過し、ろ液を先のろ液に合わせた。抽出液にリン酸緩衝液 10 mL 及び NaCl 10 g を加え 3 分間振とうし、塩析により MeCN 層を水層から分離した。MeCN 層のうち試料 10 g 相当量を無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5

g)カラムに通過させて脱水し、濃縮装置で乾固しないように濃縮し、更に窒素気流下で乾固直前まで濃縮した。残留物をアセトン-シクロヘキサン(3:7)混液を用いて超音波処理により溶解して 8 mL とした後、遠心分離(3000 rpm, 5min)し、上澄液を得た。上澄液 4 mL(試料 5 g 相当)を GPC カラムに注入し、アセトン-シクロヘキサン(3:7)混液で溶出し、農薬画分を分取した。溶出液は乾固直前まで濃縮し、ヘキサン-アセトン(1:1)混液 2 mL に溶解した後、全量を Sep-Pak Plus Silica に負荷し、ヘキサン-アセトン(1:1)混液 20 mL で溶出した。溶出液は乾固直前まで濃縮し、アセトンで 1.4 mL とし試験溶液とした。

## 8. 添加回収実験

試料に 0.05 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 0.25 µg/g、アセタミプリド、イミベンコナゾール代謝物 2、イプロジオン代謝物、トリシクラゾール及びバミドチオンは 0.5 µg/g)になるように農薬標準混液を添加したものを試料とした。

## 9. 定量及び確認

定量は SIM 測定により得られたピーク面積を用いて絶対検量線法で行った。また、確認は SCAN 測定ではマススペクトルを、低濃度でマススペクトルが得られない場合には SIM 測定によりフラグメントイオンの相対強度比を標準品と比較することにより行った。

## C. 研究結果

### 1. 添加回収率の比較

SFE 法と有機溶媒抽出法とを比較するために、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 17、有機リン系農薬 46、有機窒素系農薬 48、その他 8)を用いてトマト、ハウレンソウ及びレモンからの回収率を両方法について求めその結果を表 2 に示し、これをグラフ化したものを図 2 に示した。その結果、一部の農薬を除き両分析法ともほぼ同じ回収率が得られた。また、各農薬の回収率の相対標準偏差(RSD)は、両分析法とも大きな差は見られず、ともに概ね 5%未満であり精度の良い結果が得られた。表 3 には添加回収率のまとめを示したが、SFE 法を用

いた場合、ハウレンソウからのピレスロイド系農薬の回収率が半数以上で 50 ~ 70 %とやや低回収率となった以外は、両分析法とも大部分の農薬で良好な回収率(70 ~ 120 %)が得られた。具体的には、SFE 法及び有機溶媒抽出法で回収率が良好となったのはトマトではそれぞれ 137 及び 138 農薬、ハウレンソウでは 135 及び 137 農薬、レモンでは 146 及び 140 農薬であり、検討した 159 農薬のうち 86 ~ 92%を占めた。これらの農薬に対しては SFE 法が適用可能と考えられる。このほかやや低回収率(50 ~ 70 %)となった農薬は、SFE 法では 5 ~ 13 農薬、有機溶媒抽出法では 5 ~ 9 農薬あったが、いずれも再現性の良い結果が得られていることから、これらについてはスクリーニング分析は可能であると思われる。

いずれかの作物-分析法の組合せで回収率に問題があった農薬 (<50%, >120%)を表 4 にまとめ、<50%をゴシック体で、>120%をイタリック体で示した。その結果、両分析法で回収率が 120%を超え過大となったのはペンタクロロフェノール、アジンホスメチルであり、SFE 法のみで過大になったのは、アルジカルブ、イソフェンホスオクソン、ホスチアゼート、有機溶媒抽出法でのみ過大となったのは、フルバリネート、ホスメット、ピラクロホス、イプロジオン代謝物、ジフェノコナゾール及びイミベンコナゾールであった。回収率が 120 %を超えるような大きな値となった原因としては、GC 注入時に作物成分によりレスポンスが大きくなる現象、いわゆるマトリックス効果<sup>34)</sup>が考えられる。また、どちらか一方の方法でのみ 120 %を超えた農薬があるが、これは両分析方法で抽出される作物成分の種類や量が異なるためと思われる。回収率が 120 %を超えたこれら 11 農薬については、再現性の良い結果が得られているためスクリーニング分析は可能と考えられる。

一方、いずれかの作物-分析法の組合せで 50%未満の低回収率となった農薬はクロロタロニル、キャプタン、カプタホール、ジコホール、アクリナトリン、プロパモカルブ、エチオフェンカルブ、EPTC、ブチレート、アミラズ、ジクロフルアニド、イミベンコナゾール代謝物1(2,4-ジクロロアニリン)、メトリブジン及びピフェニルの 14 農薬であった。キャプタン、カプタホール、クロロタロニル及びジクロフ

ルアニドについては、SFE 法ではいずれの作物からもほとんど回収されなかったが、有機溶媒抽出法ではハウレンソウからは回収されなかったもののトマト及びレモンからは回収された。これらの農薬は試料の磨砕均一化操作時に植物成分により急速に分解されることが知られている<sup>36)</sup>ことから、低回収率の原因は作物成分による分解が考えられる。また、作物の種類及び分析法で回収率に差があった原因としては以下のようなことが考えられる。すなわち、これらの農薬の消失速度は、作物の均質化試料のpHが中性付近で速く、pHが低いほど遅くなり、その分解はアセトニトリルの添加や試料のpHを酸性に保つ事により防止できるとされている<sup>6)</sup>。そこで、レモン、トマト及びハウレンソウの均質化試料のpHを測定したところ、それぞれ 3、4 及び 7であった。このことから、pH が中性付近であったハウレンソウでは添加後速やかに分解がおこったのに対して、レモン及びトマトでは pH が低かったため分解が抑制されたことが考えられる。加えて、有機溶媒抽出ではアセトニトリルを添加したことにより更に分解が防止されたものと思われる。ジコホールは回収率が 200%以上になったものがあるが、これは前出のマトリックス効果というよりは、むしろジコホールが GC 注入時に容易に分解し<sup>78)</sup>、その分解率が、標準溶液中と試験溶液中とで異なる(すなわち、標準溶液中での分解の方が試験溶液中での分解よりも大きい)ことが原因と考えられる。不検出となったものについても、ジコホールの分解物である 2,4-ジクロロベンゾフェノン<sup>78)</sup>は検出されているので回収はされていると考えられる。しかし、試験溶液の組成や繰り返し注入による注入口ライナーの汚れの度合いにより分解率が変わるため正確な定量は困難であった。ジコホールを正確に定量するためには、分解を防止するかあるいは完全に分解して分解物で測定するなどの工夫が必要と思われる。アミラズは両分析法でいずれの作物からも回収されなかったが、これは酸性で不安定なためアルカリ性で抽出する必要がある<sup>9)</sup>ためと思われる。アクリナトリンはハウレンソウの有機溶媒抽出でのみ低回収率となったが、これはアクリナトリンが設定した GPC の分取画分より速く溶出したためと考えられる。なお、有機溶媒抽出法では葉緑素も抽出されるため GPC によるクリーンアップが必要であったが、SFE

法では抽出される葉緑素の量が少なくクリーンアップなしで GC/MS 測定可能であった。プロパモカルブは SFE では回収されたが、有機溶媒抽出法ではいずれの試料からも回収されなかった。これはプロパモカルブが Sep-Pak Plus Silica から溶出しなためと考えられる。EPTC、ブチレート及びピフェニルは他の農薬よりも揮発性が高いため、濃縮操作中に揮散し回収率が低くなったものと思われる。エチオフェンカルブ及びメトリブジンは酸化分解されたと考えられる。イミベンコナゾール代謝物 1 については詳細な原因は不明であるが吸着、分解等が考えられる。添加回収実験の結果、SFE 法で低回収率だった農薬のうちクロロタロニル、キャブタン、カブタホール、ジコホール、アミトラズ、ジクロフルアニド、イミベンコナゾール代謝物 1 及びメトリブジンの 8 農薬に対しては SFE 法は適用困難と思われる。EPTC、ブチレート及びピフェニルについては濃縮時の揮散防止に留意すれば適用できる可能性がある。

表 5 にはチアベンダゾール等の塩基性化合物のレモンからの回収率に対する SFE 法と有機溶媒抽出法の比較を示した。チアベンダゾール等の塩基性化合物は、酸性では水溶性となるため有機溶媒に抽出されにくくなる。そのため、酢酸ナトリウムを添加して pH 6 付近で塩析する操作が行われる<sup>10)</sup>。表 5 に示したように、レモンからのチアベンダゾール及びイマザリルの有機溶媒抽出法での回収率は酢酸ナトリウムの添加により増加した。一方、SFE 法ではこのような pH 調製なしに良好な回収率が得られた。これは、SFE 法で使用する乾燥剤が  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  と  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  の混合物で緩衝作用を有しており、そのためレモンのような酸性の試料であっても試料混合物の pH は中性付近になるためである。このように今回用いた SFE 法は作物の pH の影響を受けにくいことが期待される。

## 2. 分析値の比較

SFE 法の野菜・果実試料に対する実用性を検証するためには、添加回収実験で比較するだけでは不十分であり、実際に農薬が残留している試料を用いて分析値を有機溶媒抽出法と比較することが重要である。そこで、野菜・果実 27 種類(野菜 16 種類、果実 11 種類)、43 検体中の残留農薬を

SFE 法と有機溶媒抽出法で求め両者の分析値を比較した。表 6 にその結果を示した。表 6 には分析値のほかに SFE 法の分析値を有機溶媒抽出法の分析値で割って両者の比を求めた結果も示した。また、表 7 には農薬別にまとめた結果を示した。

大部分の検体から複数の農薬が検出され、中にはシュンギクやナシ No.1 のように 1 検体から 7 農薬検出されたものもあった。全体では延べ 133 の分析値が得られたが、これは平均して 1 検体から約 3 農薬が検出されたことになる。農薬の種類別では、有機窒素系農薬が 17 種類、有機リン系農薬が 16 種類、ピレスロイド系農薬が 11 種類、有機塩素系農薬が 9 種類、その他の農薬が 4 種類、カルバメート系農薬が 1 種類、合計 58 種類の農薬が検出された。分析値の RSD は、低濃度の場合やクロロタロニルのように分析時に分解を伴うもの場合には 10%を超えたものもあったが、概ね 10%未満であった。RSD の全体の平均値は SFE 法及び有機溶媒抽出法でそれぞれ 5.1 %及び 5.4%であり両分析法とも精度の良い結果が得られた。個々の農薬について SFE 法と有機溶媒抽出法の分析値を比較すると、検出された農薬の大部分については両者の比は概ね 100%となり、両分析法はほぼ同じ測定値を与えた。しかし、カブ(葉)、シュンギク及びニラから検出されたクロロタロニルは、比が 2 ~ 10%となり、SFE 法の分析値は有機溶媒抽出法の 1/10 であった。これは添加回収率の比較でも述べたように抽出過程での分解によるものと思われる。ナシ No.1 のフルバリネート及びトリフルラリン、ブドウ No.1 のペルメリン、カキのシペルメリン及びシハロトリンでは比が 200%以上になった。これら 5 農薬の回収率は、SFE 法と有機溶媒抽出法とで大差はなく、分析値の違いを回収率から説明することはできなかった。非極性化合物は添加試料に比べて実試料からは抽出されにくいとする報告がある<sup>11)12)</sup>。今回、比が 200%以上となった農薬はいずれも低極性農薬であったことから、その原因としては有機溶媒抽出法が、実試料に対して添加試料よりも農薬の抽出効率が悪かったためではないかと思われるが、詳細については更に検討が必要である。また、トリフルラリン以外はいずれもピレスロイド系農薬であったことから共通

構造部分が何らかの作物成分と化学反応を起こし、実試料中で抽出されにくい状態になっている可能性が考えられる。このことは、実試料中で抽出されにくくなっている農薬に対しても SFE 法は有機溶媒抽出法よりも抽出効率が低いことを示唆するものと思われる。またこのことから、SFE 法と有機溶媒抽出法のように異なる方法を用いて実試料を分析し、分析値を比較することは互いの分析法を評価する上で非常に有益な情報が得られると思われる。

図 3 には表 6 の結果を有機溶媒抽出法の分析定値を横軸にとり、SFE 法の分析値を縦軸にとって図示した。また、有機溶媒抽出法に対する SFE 法の回帰式と相関係数(R)を算出したが、その際原因が明らかなクロロタロニルは計算から除外した。その結果、 $y = 1.057x - 2.230$  ( $R = 0.996$ ) の良好な直線関係が得られた。また、得られた回帰式の切片(a)及び傾斜(b)の 95 %信頼限界は、それぞれ  $a = -2.23 \pm 8.20$  及び  $b = 1.057 \pm 0.017$  であった。このとき切片=0 は信頼限界内にあるものの、傾斜=1 は信頼限界内にはなかったため、統計的に両分析法間の系統的な差を否定することはできず、SFE 法の方が約 6% 大きな値となる結果となった。しかしその差はわずかであり、両分析法で求めた分析値は低濃度から高濃度まで非常に良く一致を示した。

#### D. 考察

SFE 法の野菜・果実試料に対する実用性について検討するためにまずトマト、ホウレンソウ及びレモンを用いた添加回収実験による回収率を有機溶媒抽出法と比較した。その結果、両分析法とも一部の農薬を除きほぼ同じ回収率及び精度が得られた。添加回収率から判断すると、SFE 法は今回検討した 159 農薬中、良好な回収率(70 ~ 120 %)が得られた 135 を超える農薬に対して適用可能と思われる。作物により異なるが、回収率がやや低かった(50 ~ 70 %)5 ~ 13 農薬及び回収率が 120 %を超えた 11 農薬については、再現性の良い結果が得られているためスクリーニング分析は可能と思われる。低回収率(<50%)だった農薬のうち EPTC、ブチレート及びビフェニルについては濃縮時の揮散防止に留意すれば適用できる可能性がある

あるが、クロロタロニル、キャプタン、カブタホール、ジコホール、アミトラズ、ジクロフルアニド、イミベンコナゾール代謝物1及びメトリブジンの 8 農薬に対しては SFE 法は適用困難と思われる。

次に実試料中の残留農薬を測定し分析値を有機溶媒抽出法と比較した。その結果、両分析法とも一部の農薬を除き両分析法で求めた分析値は非常に良い一致を示し、また精度の良い結果が得られた。検出された 58 種類の農薬中両分析法で異なる分析値となったのは、操作中の分解により SFE 法で分析値が低い値となるクロロタロニル及び原因については不明であるが SFE 法で高い値となるフルバリネート、トリフルラリン、ペルメリン、シペルメリン、シハロトリンであった。後者の 5 農薬については、添加回収実験では良好な回収率が得られており、回収率から実試料での結果を説明できなかった。このようなことから分析法の評価には添加回収実験に加えて、実試料での検討を考慮する必要があると思われる。

#### E. 結論

1. 野菜・果実試料をセライト及び脱水剤と 2:2.6:1 で混合して SFE を行ったのち、GC/MS(SIM)で測定する迅速で簡便な多成分分析法を確立した。
2. 有機溶媒抽出法はレモンのような酸性の試料を分析する場合には中和操作が必要であったが、今回検討した SFE 法は試料の pH の影響を受けにくく中和操作なしで分析が可能であった。
3. ホウレンソウなど葉緑素の多い試料を分析する場合、有機溶媒抽出法では GPC など多くのクリーンアップ操作が必要であったが、SFE 法では抽出される葉緑素の量が少なくクリーンアップなしで GC/MS 測定可能であった。
4. トマト、ホウレンソウ及びレモンを用いた添加回収実験の結果、SFE 法と有機溶媒抽出法は回収率及び精度に関してほぼ同じ結果が得られた。
5. SFE 法は大部分の農薬で 70 ~ 120 %の良好な回収率が得られた。また、RSD も概ね 5 %程度であり精度の良い結果が得られた。
6. 低回収率(<50%)だった農薬のうち EPTC、ブチレート及びビフェニルについては濃縮時の揮散防止に留意すれば SFE 法を適用できる可能性があるが、クロロタロニル、キャプタン、カブタホール、ジコ

ホール, アミトラズ, ジクロフルアニド, イミベンコナゾール代謝物1及びメトリブジンの8農薬に対してはSFE法は適用困難と思われる。

7. 実試料を用いた検討でSFE法と有機溶媒抽出法は一部の農薬を除き分析値は低濃度から高濃度まで非常に良い一致を示し, また精度の良い結果が得られた。

8. SFE法の場合, 試験溶液の調製時間は1検体当たり約1時間であり, 有機溶媒抽出法より大幅に短縮されかつ操作も簡略化されるため, 残留農薬分析の効率化と精度向上に大きく寄与するものと思われる。更にSFE装置を用いることにより抽出操作の自動化が可能となるため分析の精度向上とともに個人差の低減が期待される。

#### 【参考文献】

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) Nemoto, S., Sasaki, K., Eto, S., Saito, I., Sakai, H., Takahashi, T., Tonogai, Y., Nagayama, T., Hori, S., Mackawa, Y., Toyoda, M., J. Food Hyg.

Soc. Japan, **41**, 233-241 (2000)

3) Erney, D.R., Gillespie, A.M. and Gilvydis, D.M., J. Chromatogr., **638**, 57-63 (1993)

4) Erney, D.R. and Poole, C.F., J. High Resolution Chromatogr., **16**, 501-503 (1993)

5)後藤真康, 加藤誠哉編, “残留農薬分析法”, ソフトサイエンス社, 東京, 1989, pp11-14

6)奴田原誠克, 山本公昭:日本農薬学会誌, **3**, 101-107(1978)

7) Nemoto, S., Takatsuki, S., Sasaki, K., Toyoda, M., Bull. Natl. Health Sci., **115**, 86-92 (1997)

8) Nemoto, S., Takatsuki, S., Sasaki, K., Toyoda, M., Bull. Natl. Health Sci., **117**, 155-162 (1999)

9)残留農薬分析法研究班編“最新農薬の残留分析”, 中央法規出版, 東京, 1995, pp40-42

10) Akiyama, Y., Yano, M., Mitsuhashi, T., Takeda, N., Tsuji, M., J. Food Hyg. Soc. Japan, **37**, 351-362 (1996)

11) Burford, M. D., Hawthorne, S. B., and Miller, D. J., Anal. Chem., **65**, 1497 (1993)

12) Camle, V., Tambuté, M., and Caude, M., J. Chromatogr. A, **693**, 101 (1995)

表 1-1 農薬の保持時間( $t_r$ )及び定量用イオン( $m/z$ )

Pesticides	$t_r$ (min)	$m/z$ (amu)	Pesticides	$t_r$ (min)	$m/z$ (amu)
<b>Organochlorine pesticides (26)</b>			<b>Pyrethroid pesticides (14)</b>		
Aldrin	14.68	260.8	Acrinathrin	19.99	181.0
alpha-BHC	11.80	218.9	Bifenthrin	18.87	181.1
beta-BHC	12.35	218.9	Cyfluthrin	21.35	226.0
gamma-BHC	12.49	218.9	Cyhalothrin	19.86	197.0
delta-BHC	13.10	218.9	Cypermethrin	21.65	162.9
Captafol	18.49	79.0	Deltamethrin	23.46	181.0
Captan	15.61	79.0	Ethofenprox	21.89	163.0
Chlorobenzilate	17.15	250.9	Fenpropathrin	19.08	181.1
Chlorothalonil	12.87	265.9	Fenvalerate	22.71	167.0
Chlorthal-dimethyl	14.66	300.9	Flucythrinate	21.71	199.0
p,p'-DDD	17.34	235.0	Fluvalinate	22.73	250.0
p,p'-DDE	16.53	245.9	Halfenprox	21.63	262.9
o,p'-DDT	17.38	234.9	Permethrin	20.82	183.0
p,p'-DDT	18.05	234.9	Tefluthrin	12.88	177.0
Dicofol	19.18	251.0	<b>Carbamate pesticides (17)</b>		
Dieldrin	16.67	262.8	Aldicarb <sup>1)</sup>	3.85	115.0
Endosulfan sulfate	18.01	271.8	Bendiocarb	11.40	151.0
alpha-Endosulfan	16.15	240.9	Butylate	8.70	146.0
beta-Endosulfan	17.29	194.9	Carbaryl	13.94	115.0
Endrin	17.08	262.8	Carbofuran	12.14	164.1
Heptachlor	13.95	271.7	Chlorpropham	11.27	213.0
Heptachlor epoxide	15.43	352.8	Diethofencarb	14.57	151.0
Hexachlorobenzene	11.87	283.8	EPTC	7.93	86.0
Methoxychlor	19.06	227.1	Esprocarb	14.42	222.1
Pentachlorophenol	12.40	265.8	Ethiofencarb	13.35	107.1
Quintozene	12.37	236.8	Fenobucarb	10.68	121.0
<b>Other pesticides (8)</b>			Isoprocarb	9.92	121.0
Benfuresate	13.48	163.0	Methiocarb	14.29	168.0
Biphenyl	8.35	154.1	Pirimicarb	13.14	166.1
Bromopropylate	18.97	183.0	Propamocarb	8.35	58.0
Dimethipin	12.31	54.1	Propoxur	10.71	110.0
Methoprene	15.64	111.0	Thiobencarb	14.61	100.1
o-Phenylphenol	9.83	170.1			
Piperonyl butoxide	18.40	176.1			
Propargite	18.29	135.1			

1) The decomposition product was measured.



表 1-2 農薬の保持時間( $t_r$ )及び定量用イオン( $m/z$ )

Pesticides	$t_r$ (min)	$m/z$ (amu)	Pesticides	$t_r$ (min)	$m/z$ (amu)
<b>Organophosphorus pesticides (46)</b>			<b>Organonitrogen pesticides (48)</b>		
Acephate	8.79	136.0	Acetamiprid	18.91	126.0
Azinphos-ethyl	20.27	160.0	Amitraz	19.87	293.2
Azinphos-methyl	19.70	160.0	Benalaxyl	17.76	148.1
Bromophos-ethyl	15.79	302.8	Bitertanol	20.65	170.1
Butamifos	16.13	286.0	Chinomethionat	15.98	233.9
Cadusafos	11.56	158.9	Cyproconazole	16.97	222.0
(E)-Chlorfenvinphos	15.18	266.9	Dichlofluanid	14.39	223.9
(Z)-Chlorfenvinphos	15.40	266.9	Dicloran	12.11	124.0
Chlorpyrifos	14.55	198.9	Difenoconazole	23.15	323.0
Chlorpyrifos-methyl	13.62	285.9	Diphenylamine	10.98	169.1
Cyanophos	12.56	243.0	Fenarimol	20.14	138.9
Diazinon	12.62	179.1	Flusilazole	16.62	233.0
Dichlorvos	6.80	109.0	Flutolanil	16.26	173.0
Dimethoate	12.07	87.0	Imazalil	16.34	215.0
(Z)-Dimethylvinphos	14.61	294.9	Imibenconazole	24.99	125.0
Dioxabenzofos	11.46	215.9	Imibenconazole Met.1 <sup>1)</sup>	7.82	160.9
Disulfoton	12.88	88.0	Imibenconazole Met.2 <sup>2)</sup>	16.76	235.0
Edifenphos	17.91	310.0	Iprodione	18.75	313.9
EPN	18.95	169.0	Iprodione metabolite	19.43	186.8
Ethion	17.30	152.9	Lenacil	18.01	153.0
Ethoprophos	11.02	157.9	Mefenacet	19.85	192.0
Etrimfos	12.97	292.0	Mepronil	17.58	119.1
Fenitrothion	14.25	277.0	Metalaxyl	13.90	206.1
Fensulfothion	17.20	292.0	Metolachlor	14.52	162.1
Fenthion	14.65	278.0	Metribuzin	13.65	198.0
Fosthiazate	15.09	194.9	Myclobutanil	16.60	179.0
Isofenphos	15.35	213.0	Paclobutrazol	15.99	236.0
Isofenphos oxon	14.73	228.9	Pendimethalin	15.19	252.1
Isoxathion	16.88	105.0	Pretilachlor	16.36	238.1
Malaaxon	13.66	127.0	Procymidone	15.59	283.0
Malathion	14.40	173.1	Propanil	13.63	161.0
Methamidophos	6.76	94.0	Propiconazole	18.00	174.9
Methidathion	15.83	144.9	Pyridaben	20.88	147.1
Parathion	14.73	291.0	(E)-Pyrifenox	15.91	261.9
Parathion-methyl	13.77	262.9	(Z)-Pyrifenox	15.40	261.9
Phenthoate	15.50	273.9	Pyrimidifen	22.32	184.0
Phosalone	19.59	181.9	Pyriproxyfen	19.73	136.0
Phosmet	18.94	160.0	Silafluofen	22.04	258.0
Pirimiphos-methyl	14.16	290.0	Tebuconazole	18.31	125.0
Prothiofos	16.36	309.0	Tebufenpyrad	19.19	333.1
Pyraclufos	20.39	360.0	Thenylchlor	18.21	127.0
Quinalphos	15.53	146.0	Thiabendazole	15.67	201.0
Terbufos	12.53	231.0	Triadimefon	14.77	57.1
Thiometon	11.92	88.0	Triadimenol	15.61	112.1
Tolclofos-methyl	13.78	264.9	Tricyclazole	16.60	188.9
Vamidothion	15.99	145.0	Triflumizole	15.60	278.0
			Trifluralin	11.25	306.1
			Vinclozolin	13.69	212.0

1) Imibenconazole Met.1: 2,4-Dichloroaniline.

2) Imibenconazole Met.2: Imibenconazole des benzyl type.

表 2 添加回収率の比較

Pesticides	Recovery (% , n=3)											
	Tomato				Spinach				Lemon			
	MeCN <sup>1)</sup>		SFE <sup>2)</sup>		MeCN		SFE		MeCN		SFE	
	Mean	RSD <sup>3)</sup>	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD
<b>Organochlorine pesticides</b>												
Aldrin	69	1	84	5	73	5	83	2	77	2	77	4
alpha-BHC	71	3	96	2	74	4	95	4	76	3	100	2
beta-BHC	92	4	100	3	90	6	98	6	85	3	101	3
gamma-BHC	74	2	103	3	73	5	102	4	79	3	96	0
delta-BHC	90	4	103	5	84	7	96	4	89	3	99	2
Captafol	91	12	2	76	29	4	ND <sup>4)</sup>		143	9	ND	
Captan	90	11	6	78	11	18	ND		92	7	15	131
Chlorobenzilate	95	4	103	3	92	7	91	5	92	2	91	2
Chlorothalonil	119	8	8	63	32	59	19	16	60	42	ND	
Chlorthal-dimethyl	77	3	93	2	77	6	88	5	82	3	88	3
p,p'-DDD	99	5	103	2	89	5	76	7	91	5	91	2
p,p'-DDE	85	5	88	2	80	6	75	1	86	3	74	1
o,p'-DDT	83	3	71	4	75	7	75	5	93	4	68	2
p,p'-DDT	79	8	63	2	63	4	88	3	100	2	67	5
Dicofol	203	4	11	138	107	69	ND		234	14	ND	
Dieldrin	84	3	95	3	85	6	84	2	87	4	89	4
Endosulfan sulfate	102	5	99	3	101	7	87	3	93	2	98	2
alpha-Endosulfan	82	6	86	2	93	2	90	7	81	5	87	2
beta-Endosulfan	95	5	100	3	95	6	92	7	90	3	100	1
Endrin	91	3	94	2	89	4	87	6	90	2	94	3
Heptachlor	71	1	84	1	75	6	92	1	78	2	75	3
Heptachlor epoxide	76	2	91	1	78	5	87	2	81	2	86	3
Hexachlorobenzene	62	5	65	2	68	5	85	9	65	3	77	1
Methoxychlor	76	5	64	4	98	3	56	15	110	3	70	1
Pentachlorophenol	133	2	183	2	71	1	148	2	107	2	139	3
Quintozene	76	3	90	3	72	4	99	5	79	3	88	2
<b>Pyrethroid pesticides</b>												
Acrinathrin	99	2	96	1	20	10	61	0	100	3	86	2
Bifenthrin	99	5	91	3	101	4	62	2	100	2	70	1
Cyfluthrin	107	1	106	7	103	3	74	3	96	5	91	2
Cyhalothrin	104	4	93	1	87	5	66	4	99	3	81	1
Cypermethrin	105	3	93	2	104	2	73	5	96	4	83	10
Deltamethrin	119	4	94	1	106	2	73	2	85	6	92	2
Ethofenprox	103	4	86	1	99	4	61	3	94	3	69	1
Fenpropathrin	101	3	91	2	98	4	84	2	105	2	82	3
Fenvalerate	103	7	95	3	107	3	82	3	86	5	98	2
Flucythrinate	112	4	92	1	102	4	69	3	92	4	72	8
Fluvalinate	121	3	91	1	83	5	61	3	82	5	76	2
Halfenprox	106	4	88	1	103	4	61	2	90	4	53	4
Permethrin	99	1	91	1	100	4	62	3	100	1	84	2
Tefluthrin	74	1	91	2	56	4	80	4	80	1	77	0
<b>Carbamate pesticides</b>												
Aldicarb	88	6	89	6	89	2	118	18	84	4	173	15
Bendiocarb	88	2	113	1	81	4	103	1	87	2	102	1
Butylate	48	17	59	6	53	7	73	5	44	7	45	7
Carbaryl	103	1	116	3	103	6	100	7	110	2	109	1
Carbofuran	95	0.4	114	1	79	7	104	1	89	3	112	1
Chlorpropham	87	3	106	1	84	4	108	4	80	3	101	3
Diethofencarb	85	12	62	10	92	4	72	8	84	11	80	1
EPTC	56	19	44	9	62	6	70	5	33	4	49	12
Esprocarb	86	2	105	3	80	6	87	4	86	3	93	4
Ethiofencarb	88	4	117	3	30	23	90	2	89	3	106	2
Fenobucarb	80	4	116	0	77	4	105	7	74	3	102	2
Isoprocarb	78	5	110	1	74	3	109	5	75	4	97	1
Methiocarb	99	2	109	1	89	4	103	3	95	5	107	2
Pirimicarb	85	3	110	2	82	5	105	4	85	3	109	2
Propamocarb	ND		82	13	ND		91	6	ND		48	13
Propoxur	84	2	112	1	76	4	108	6	80	3	112	0
Thiobencarb	74	3	100	3	76	6	101	4	86	2	87	2

表 2 添加回収率の比較(続き)

Pesticides	Recovery (%; n=3)											
	Tomato				Spinach				Lemon			
	MeCN		SFE		MeCN		SFE		MeCN		SFE	
	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD
<b>Organophosphorus pesticides</b>												
Acephate	91	3	118	2	77	6	115	4	71	5	110	3
Azinphos-ethyl	118	3	109	2	111	4	85	4	107	5	84	3
Azinphos-methyl	223	2	140	2	199	3	96	0	100	3	127	2
Bromophos-ethyl	84	2	98	2	83	8	76	3	90	2	86	1
Butamifos	94	5	111	3	104	7	88	9	100	2	102	4
Cadusafos	77	3	106	1	82	6	99	4	76	4	86	1
(E)-Chlorfenvinphos	94	5	111	3	96	6	88	5	92	3	95	1
(Z)-Chlorfenvinphos	94	5	109	3	96	7	91	4	89	3	92	1
Chlorpyrifos	93	2	97	6	79	3	76	9	86	2	85	3
Chlorpyrifos-methyl	85	2	96	2	81	5	94	4	84	1	90	2
Cyanophos	77	1	110	0	74	6	104	8	81	2	97	1
Diazinon	78	3	109	2	78	3	87	0	79	3	86	3
Dichlorvos	82	14	57	29	74	5	67	31	53	4	102	13
Dimethoate	107	3	115	1	105	6	108	4	92	2	114	1
(Z)-Dimethylvinphos	100	5	108	1	101	6	99	3	95	3	101	1
Dioxabenzofos	81	2	96	4	78	4	102	8	79	2	99	2
Disulfoton	70	2	95	2	52	5	86	8	75	2	83	1
Edifenphos	110	4	111	2	109	7	89	1	96	4	101	1
EPN	101	3	113	2	101	6	84	5	104	4	104	3
Ethion	93	3	103	3	88	6	79	6	93	4	90	3
Ethoprophos	78	3	109	1	81	5	91	5	76	3	97	1
Etrinfos	78	1	102	2	76	6	101	6	81	3	87	2
Fenitrothion	100	3	116	0	98	8	103	5	97	3	98	7
Fensulfotthion	79	5	110	2	71	3	81	2	96	2	117	1
Fenthion	83	2	105	2	78	6	94	5	87	3	98	2
Fosthiazate	103	1	122	1	102	4	104	3	102	2	127	3
Isofenphos	90	4	111	5	81	7	89	2	86	2	88	0
Isofenphos oxon	101	5	126	1	102	5	87	3	108	3	113	1
Isoxathion	92	3	92	5	107	4	87	5	105	1	81	2
Malaoxon	91	3	106	9	94	6	83	9	87	4	117	1
Malathion	98	2	87	5	91	5	91	1	98	3	97	4
Methamidophos	86	4	102	1	87	3	115	7	72	3	90	10
Methidathion	102	4	110	1	100	6	95	3	98	2	94	8
Parathion	94	2	105	1	92	7	84	6	113	4	98	2
Parathion-methyl	100	2	120	1	93	7	101	4	97	4	108	1
Phenthoate	66	4	106	2	77	6	87	6	63	3	95	2
Phosalone	116	5	107	1	110	4	84	3	97	3	94	1
Phosmet	146	3	95	9	144	3	88	4	99	3	101	4
Primiphos-methyl	82	3	103	3	84	5	94	6	86	2	92	2
Prothiofos	85	4	87	3	81	7	59	3	85	1	77	4
Pyraclofos	161	4	107	1	145	2	90	4	99	2	91	3
Quinalphos	85	4	111	3	85	6	87	2	89	3	99	1
Terbufos	69	4	95	3	69	4	88	8	74	2	81	0
Thiometon	70	5	95	2	55	7	95	9	72	2	89	2
Tolclofos-methyl	81	3	99	3	75	8	98	5	81	2	93	1
Vamidothion	61	8	101	1	- <sup>5)</sup>		88	6	75	4	100	2
<b>Other pesticides</b>												
Benfuresate	78	3	107	2	76	6	107	2	86	6	99	3
Biphenyl	43	20	21	11	53	6	74	6	36	6	45	11
Bromopropylate	98	3	100	2	100	3	75	5	97	4	90	1
Dimethipin	92	4	112	4	88	6	107	8	89	3	99	3
Methoprene	96	10	60	6	81	6	-		85	3	75	11
<i>o</i> -Phenylphenol	87	3	111	1	77	5	119	6	77	3	118	2
Peroponyl butoxide	97	4	103	2	96	6	77	5	96	3	84	1
Propargite	86	4	88	4	88	5	81	3	92	1	79	0

表 2 添加回収率の比較(続き)

Pesticides	Recovery(%, n=3)											
	Tomato				Spinach				Lemon			
	MeCN		SFE		MeCN		SFE		MeCN		SFE	
	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD
<b>Organonitrogen pesticides</b>												
Acetamiprid	113	4	106	1	105	1	79	1	79	3	106	4
Amitraz	ND		ND		ND		ND		1	31	7	32
Benalaxyl	100	4	105	3	97	6	87	1	97	4	93	2
Bitertanol	109	4	106	1	110	2	87	3	91	4	97	1
Chinomethionat	93	2	81	14	89	6	79	11	93	1	92	4
Cyproconazole	103	4	111	2	88	3	92	3	105	6	101	0
Dichlofluanid	78	6	20	3	32	9	8	18	106	3	13	13
Dicloran	108	5	111	3	98	5	114	9	98	6	109	4
Difenoconazole	147	2	110	2	121	1	80	6	70	5	101	2
Diphenylamine	68	3	89	2	73	4	108	6	71	1	97	0
Fenanimol	112	4	108	2	105	3	87	4	95	3	97	2
Flusilazole	98	4	105	2	95	6	83	8	91	2	96	2
Flutolanil	102	4	117	2	96	5	85	7	96	3	102	1
Imazalil	101	3	101	0	86	5	75	4	83	3	97	2
Imibenconazole	160	2	107	3	135	6	80	8	54	4	109	1
Imibenconazole Met.1	36	7	36	16	26	12	83	3	26	10	52	5
Imibenconazole Met.2	104	2	102	0	100	4	79	2	95	3	99	2
Iprodione	109	4	97	1	104	6	84	1	102	4	94	3
Iprodione metabolite	141	8	101	5	100	2	74	0	98	2	100	9
Lenacil	113	3	116	2	107	3	91	3	96	3	104	1
Mefenacet	109	5	107	1	104	4	83	5	95	2	101	2
Mepronil	98	4	111	1	95	5	100	3	98	3	101	2
Metalaxyl	91	4	113	4	89	6	109	5	87	1	103	3
Metolachlor	83	3	111	1	83	7	93	6	86	3	95	1
Metribuzin	44	2	12	13	71	6	46	5	75	3	95	2
Myclobutanil	99	2	104	3	96	4	89	4	94	4	98	2
Paclobutrazol	100	1	120	1	96	4	77	6	84	7	114	3
Pendimethalin	83	3	102	2	84	7	90	9	85	2	89	1
Pretilachlor	89	4	98	3	86	6	85	4	87	3	89	1
Procymidone	87	4	101	5	87	6	93	4	87	3	96	2
Propanil	98	2	111	1	96	5	98	2	91	1	109	2
Propiconazole	104	4	107	3	106	3	87	6	93	1	95	4
Pyridaben	106	3	94	2	98	4	74	3	95	3	82	1
(E)-Pyrifenoxy	93	5	108	0	84	8	77	7	93	2	96	2
(Z)-Pyrifenoxy	89	5	108	1	81	8	86	4	89	4	96	3
Pyrimidifen	109	4	99	0	101	3	74	7	88	4	91	1
Pyriproxyfen	96	4	94	2	94	5	79	7	96	3	84	2
Silafluofen	104	4	81	1	98	4	53	3	93	3	70	2
Tebuconazole	101	2	109	2	104	1	81	3	96	2	100	1
Tebufenpyrad	103	5	99	2	100	5	84	3	97	3	87	1
Thenylchlor	102	3	112	2	102	5	94	1	99	2	101	2
Thiabendazole	102	3	101	7	85	4	73	5	87	5	81	8
Triadimefon	97	3	99	3	97	2	100	2	95	3	100	2
Triadimenol	98	4	120	5	92	6	80	3	96	3	110	2
Tricyclazole	104	1	96	3	112	6	90	4	73	2	97	3
Triflumizole	82	4	108	3	85	6	66	2	79	2	95	0
Trifluralin	73	4	94	2	74	5	79	10	73	4	77	0
Vinclozolin	81	2	105	1	81	6	97	1	90	2	98	4

1) MeCN: MeCN extraction method.

2) SFE: SFE method.

3) RSD: relative standard deviation.

4) ND: not detected.

5) -: interfered.

表3 添加回収率のまとめ

Recovery	Number of pesticides					
	Tomato		Spinach		Lemon	
	MeCN	SFE	MeCN	SFE	MeCN	SFE
<b>Organochlorine pesticides</b>						
>120 %	2	1	0	1	2	1
70-120%	22	18	21	20	22	19
50-70%	2	3	2	1	2	2
<50%	0	4	3	4	0	4
Interfered	0	0	0	0	0	0
Total	26	26	26	26	26	26
<b>Pyrethroid pesticides</b>						
>120 %	1	0	0	0	0	0
70-120%	13	14	12	6	14	12
50-70%	0	0	1	8	0	2
<50%	0	0	1	0	0	0
Interfered	0	0	0	0	0	0
Total	14	14	14	14	14	14
<b>Carbamate pesticides</b>						
>120 %	0	0	0	0	0	1
70-120%	14	14	13	17	14	13
50-70%	1	2	2	0	0	0
<50%	2	1	2	0	3	3
Interfered	0	0	0	0	0	0
Total	17	17	17	17	17	17
<b>Organophosphorus pesticides</b>						
>120 %	3	3	3	0	0	2
70-120%	40	42	39	44	44	44
50-70%	3	1	3	2	2	0
<50%	0	0	0	0	0	0
Interfered	0	0	1	0	0	0
Total	46	46	46	46	46	46
<b>Organonitrogen pesticides</b>						
>120 %	3	0	2	0	0	0
70-120%	41	44	43	43	45	45
50-70%	1	0	0	2	1	1
<50%	3	4	3	3	2	2
Interfered	0	0	0	0	0	0
Total	48	48	48	48	48	48
<b>Other pesticides</b>						
>120 %	0	0	0	0	0	0
70-120%	7	6	7	7	7	7
50-70%	0	1	1	0	0	0
<50%	1	1	0	0	1	1
Interfered	0	0	0	1	0	0
Total	8	8	8	8	8	8
<b>Overall</b>						
>120 %	9	4	5	1	2	4
70-120%	137	138	135	137	146	140
50-70%	7	7	9	13	5	5
<50%	6	10	9	7	6	10
Interfered	0	0	1	1	0	0
Total	159	159	159	159	159	159

表 4 回収率に問題のある農薬 (<50%, >120%)

Pesticides	Recovery (%; n=3)											
	Tomato				Spinach				Lemon			
	MeCN		SFE		MeCN		SFE		MeCN		SFE	
	Mean	RSD <sup>1)</sup>	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD
<b>Organochlorine pesticides</b>												
Chlorothalonil	119	8	8	63	32	59	19	16	60	42	ND <sup>2)</sup>	
Captan	90	11	6	78	11	18	ND		92	7	15	131
Captafol	91	12	2	76	29	4	ND		143	9	ND	
Dicofol	203	4	11	138	107	69	ND		234	14	ND	
Pentachlorophenol	133	2	183	2	71	1	148	2	107	2	139	3
<b>Pyrethroid pesticides</b>												
Acrinathrin	99	2	96	1	20	10	61	0	100	3	86	2
Fluvalinate	121	3	91	1	83	5	61	3	82	5	76	2
<b>Carbamate pesticides</b>												
Propamocarb	ND		82	13	ND		91	6	ND		48	13
EPTC	56	19	44	9	62	6	70	5	33	4	49	12
Butylate	48	17	59	6	53	7	73	5	44	7	45	7
Ethiofencarb	88	4	117	3	30	23	90	2	89	3	106	2
Aldicarb	88	6	89	6	89	2	118	18	84	4	173	15
<b>Organophosphorus pesticides</b>												
Isofenphos oxon	101	5	126	1	102	5	87	3	108	3	113	1
Fosthiazate	103	1	122	1	102	4	104	3	102	2	127	3
Phosmet	146	3	95	9	144	3	88	4	99	3	101	4
Pyraclofos	161	4	107	1	145	2	90	4	99	2	91	3
Azinphos-methyl	223	2	140	2	199	3	96	0	100	3	127	2
<b>Organonitrogen pesticides</b>												
Amitraz	ND		ND		ND		ND		1	31	7	32
Dichlofluanid	78	6	20	3	32	9	8	18	106	3	13	13
Imibenconazole Met.1	36	7	36	16	26	12	83	3	26	10	52	5
Metribuzin	44	2	12	13	71	6	46	5	75	3	95	2
Iprodione metabolite	141	8	101	5	100	2	74	0	98	2	100	9
Difenoconazole	147	2	110	2	121	1	80	6	70	5	101	2
Imibenconazole	160	2	107	3	135	6	80	8	54	4	109	1
<b>Other pesticides</b>												
Biphenyl	43	20	21	11	53	6	74	6	36	6	45	11

1) RSD: relative standard deviation.

2) ND: not detected.

表 5 レモンからの回収率

Pesticides	Recovery (%; n=3)					
	MeCN				SFE	
	Without NaOAc		With NaOAc			
	Mean	RSD*	Mean	RSD	Mean	RSD
Thiabendazole	28	1	87	5	81	8
Imazalil	62	4	83	3	97	2

\* RSD: relative standard deviation.

表 6 分析値の比較

No.	Sample	Pesticides	Concentration (ng/g)				Ratios <sup>1)</sup> (%)
			SFE		MeCN		
			Mean	RSD <sup>2)</sup>	Mean	RSD	
1	Sweet pepper No.1	Prothiofos	253	5	261	9	97
		Methamidophos	7.7	5	7.1	0.3	109
2	Sweet pepper No.2	Iprodione	76	5	82	2	93
		Metalaxyl	1.3	7	1.4	3	91
3	Sweet pepper No.3	beta-Endosulfan	154	4	160	2	96
		alpha-Endosulfan	102	11	108	1	94
		Procymidone	85	3	96	3	89
		Endosulfan sulfate	30	4	31	4	97
		Hexachlorobenzene	0.10	32	0.13	10	79
4	Sweet pepper No.4	Bifenthrin	13	5	15	2	90
		Iprodione	8.2	5	8.4	6	97
		Permethrin	1.9	5	1.8	4	106
		Endosulfan sulfate	0.69	12	0.73	6	94
5	Celery No.1	Tebufenpyrad	23	6	26	16	88
		Diazinon	21	2	21	11	97
		(Z)-Chlorfenvinphos	1.6	8	1.7	15	101
		(E)-Chlorfenvinphos	0.80	5	0.78	5	103
6	Celery No.2	Procymidone	5.2	3	5.5	0.1	95
		Bifenthrin	3.7	5	5.5	2	67
		Diazinon	1.8	3	2.2	3	83
		Hexachlorobenzene	0.43	2	0.53	7	81
7	Cabbage No.1	Acephate	76	3	78	0.5	97
		Procymidone	13	8	14	4	99
		Methamidophos	4.0	7	4.1	2	97
8	Cabbage No.2	Acephate	407	1	272	9	150
		Methamidophos	51	0.4	38	9	132
		Tolclofos-methyl	13	13	13	8	100
9	Cucumber No.1	Metalaxyl	19	1	17	2	109
		Triflumizole	6.2	4	6.5	4	95
		Endosulfan sulfate	4.7	1	5.2	1	90
10	Cucumber No.2	Procymidone	22	2	21	9	103
		EPN	15	6	19	9	81
11	Carrot No.1	Endosulfan sulfate	6.5	6	8.2	1	79
		Pendimethalin	1.0	1	1.3	5	81
		Tolclofos-methyl	0.8	4	1.0	1	83
12	Carrot No.2	Phenthoate	2.7	7	3.1	8	87
		Pendimethalin	1.7	8	2.8	10	62
		Heptachlor epoxide	0.39	4	0.48	4	82
13	Sunnylettuce	Carbaryl	48	5	48	2	101
		Fluvalinate	6.2	5	7.2	2	90
14	Lettuce	Acephate	926	1	854	5	109
		Methamidophos	192	1	197	3	97
15	Tomato	Iprodione	142	6	165	3	86
16	Eggplant (Nasu)	Methamidophos	10	2	8.9	2	115
17	Pumpkin	Dieldrin	16	0	17	4	98
		Pendimethalin	0.92	2	0.97	8	95
		Hexachlorobenzene	0.22	3	0.24	2	93
18	Broccoli	Chlorthal-dimethyl	1.2	3	1.4	2	88

表6 分析値の比較(続き)

No.	Sample	Pesticides	Concentration (ng/g)				Ratios (%)
			SFE		MeCN		
			Mean	RSD	Mean	RSD	
19	Tumip (root) (Kabu)	Metalaxyl	17	1	16	0	108
		(Z)-Chlorfenvinphos	18	3	18	1	103
		(E)-Chlorfenvinphos	4.6	2	4.8	3	97
		Flucythrinate	2.4	2	2.8	3	85
		Tefluthrin	0.84	5	0.87	4	97
20	Tumip (leaves) (Kabu)	Chlorothalonil	155	20	2271	50	7
		(Z)-Chlorfenvinphos	249	6	266	9	93
		(E)-Chlorfenvinphos	130	6	145	12	90
		Flucythrinate	26	3	32	14	83
		Tefluthrin	0.69	2	0.91	3	76
21	Garland chrysanthemum (Shungiku)	Chlorothalonil	538	2	5410	2	10
		Deltamethrin	40	3	54	0	74
		Pyraclufos	18	3	27	3	68
		Diazinon	10	2	11	2	91
		Cypermethrin	3.0	8	3.1	3	96
		Quintozene	2.0	8	2.2	8	91
		Hexachlorobenzene	0.23	6	0.28	2	83
22	Spinach	Endosulfan sulfate	4.9	3	6.0	5	82
		Quintozene	1.6	2	1.5	2	108
		Hexachlorobenzene	0.36	8	0.36	3	100
23	Leek (Nira)	Fenvalerate	298	8	464	3	64
		Tolclofos-methyl	60	1	74	2	80
		Chlorothalonil	1.4	33	84	12	2
		Pendimethalin	2.2	6	3.4	4	65
		Myclobutanil	1.1	2	1.1	6	103
24	Pear (Nashi) No.1	Fenpropathrin	134	5	78	4	172
		Fluvalinate	10	8	4.3	2	236
		Phosalone	3.0	10	2.8	2	105
		Bitertanol	2.9	7	2.4	3	117
		Edifenphos	1.7	4	1.6	5	105
		Fenitrothion	1.1	1	1.1	2	101
		Trifluralin	0.29	1	0.12	3	250
25	Pear (Nashi) No.2	Bitertanol	14	5	13	3	108
		Deltamethrin	7.2	5	7.1	5	102
		Fenvalerate	5.4	7	5.0	0.4	107
		Difenoconazole	0.65	5	0.60	7	109
		Fenitrothion	0.61	1	0.58	1	105
		Flutolanil	0.29	10	0.28	6	102
26	Grapefruit No.1	Thiabendazole	320	5	366	4	87
		Imazalil	367	7	296	4	124
		Imibenconazole	0.14	1	0.12	6	114
27	Grapefruit No.2	Imazalil	1124	5	921	12	122
		Bromopropylate	359	1	380	3	95
		Pyriproxyfen	2.2	4	2.6	6	82
28	Grapefruit No.3	Thiabendazole	419	6	405	6	104
		<i>o</i> -Phenylphenol	168	1	112	8	150



表 6 分析値の比較(続き)

No.	Sample	Pesticides	Concentration (ng/g)				Ratios (%)
			SFE		MeCN		
			Mean	RSD	Mean	RSD	
29	Lemon No.1	<i>o</i> -Phenylphenol	2853	4	2578	0.2	111
		Imazalil	500	2	361	6	138
		Thiabendazole	133	6	132	13	100
		Chlorpyrifos	29	5	34	7	85
30	Lemon No.2	<i>o</i> -Phenylphenol	3340	3	3058	2	109
		Imazalil	373	6	352	1	106
		Thiabendazole	87	7	84	12	104
		Chlorpyrifos	16	3	21	7	79
31	Lemon No.3	Imazalil	2058	7	2038	10	101
		<i>o</i> -Phenylphenol	36	0.3	33	5	110
		Chlorpyrifos	25	4	31	4	79
32	Orange No.1	Thiabendazole	2134	12	2146	12	99
		Imazalil	1149	8	1202	13	96
		Pyriproxyfen	4.5	9	5.1	12	88
33	Orange No.2	Thiabendazole	487	5	688	6	71
		Chlorpyrifos	73	7	105	6	70
		Biphenyl	7.4	8	12	8	60
34	Grape No.1	Permethrin	173	13	34	10	511
35	Grape No.2	Vinclozolin	2.7	3	3.3	1	83
		Chlorpyrifos	0.59	2	0.56	5	106
36	Nectarine No.1	Cyanophos	3.8	4	3.6	7	104
		Chlorpyrifos	3.5	3	3.2	9	109
		Acrinathrin	0.80	2	0.84	7	96
37	Nectarine No.2	Phosmet	57	1	50	9	115
		Propargite	10	4	10	2	102
		Iprodione	5.1	4	5.2	7	98
38	Peach No.1	Iprodione	4.8	5	4.9	2	99
		Bitertanol	4.4	7	4.4	8	100
39	Peach No.2	Bitertanol	7.5	10	7.7	3	97
		Cyanophos	2.6	2	2.6	9	101
		Iprodione	2.6	3	2.6	3	99
40	Persimmon (Kaki)	Cypermethrin	22	6	6.4	8	346
		Cyhalothrin	12	7	5.0	4	248
41	Apple	Prothiofos	5.1	3	4.4	0.4	116
		Bifenthrin	1.3	3	1.1	8	115
42	Blueberry	Iprodione	374	6	368	1	102
		Iprodione metabolite	32	4	31	4	102
		Fenvalerate	25	10	22	4	115
43	Melon	Endosulfan sulfate	23	5	24	3	96

1) Ratios = (Results of SFE method)/(Results of MeCN extraction method) × 100: >200 %, <50 %

2) RSD: relative standard deviation.

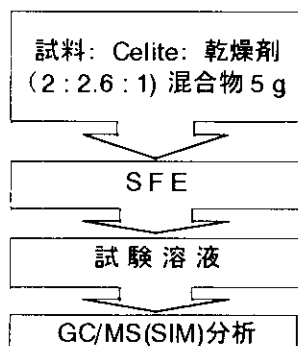
表 7 農薬別の分析値の比較

Pesticides	n	Ratios <sup>1)</sup> (%)		Pesticides	n	Ratios (%)	
		Mean	RSD <sup>2)</sup>			Mean	RSD
<b>Organochlorine pesticides</b>				<b>Pyrethroid pesticides</b>			
Quintozene	2	99	12	Permethrin	2	<b>308</b>	93
Dieldrin	1	98		Cyhalothrin	1	<b>248</b>	
beta-Endosulfan	1	96		Cypermethrin	2	<b>221</b>	80
alpha-Endosulfan	1	94		Fenpropathrin	1	172	
Endosulfan sulfate	6	90	8	Fluvalinate	2	163	63
Chlorthal-dimethyl	1	88		Acrinathrin	1	96	
Hexachlorobenzene	5	87	10	Fenvalerate	3	95	28
Heptachlor epoxide	1	82		Bifenthrin	3	90	26
Chlorothalonil	3	<b>6</b>	67	Deltamethrin	2	88	23
<b>Organophosphorus pesticides</b>				<b>Carbamate pesticides</b>			
Accephate	3	118	23	Tefluthrin	2	87	16
Phosmet	1	115		Flucythrinate	2	84	2
Methamidophos	5	110	13	<b>Carbamate pesticides</b>			
Prothiofos	2	107	13	Carbaryl	1	101	
Phosalone	1	105		<b>Organonitrogen pesticides</b>			
Edifenphos	1	105		Trifluralin	1	<b>250</b>	
Fenitrothion	2	103	3	Imazalil	6	115	14
Cyanophos	2	103	2	Imibenconazole	1	114	
(Z)-Chlorfenvinphos	3	99	5	Difenoconazole	1	<b>109</b>	
(E)-Chlorfenvinphos	3	97	7	Bitertanol	4	105	8
Diazinon	3	90	7	Myclobutanil	1	103	
Chlorpyrifos	6	88	18	Metalaxyl	3	103	10
Tolclofos-methyl	3	88	11	Flutolanil	1	102	
Phenthoate	1	87		Iprodione metabolite	1	102	
EPN	1	81		Procymidone	4	97	7
Pyraclufos	1	68		Iprodione	7	96	6
<b>Other pesticides</b>				<b>Triflumizole</b>			
o-Phenylphenol	4	120	17	Thiabendazole	1	95	
Propargite	1	102		Tebufenpyrad	6	94	14
Bromopropylate	1	95		Pyriproxyfen	1	88	
Biphenyl	1	60		Vinclozolin	2	85	5
				Vinclozolin	1	83	
				Pendimethalin	4	76	20

1) Ratios = (Results of SFE method)/(Results of MeCN extraction method) × 100: >200 %, <50 %

2) RSD: relative standard deviation.

(1) SFE法

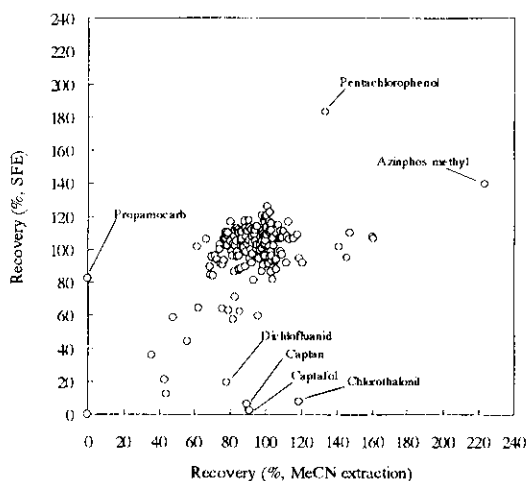


(2) 有機溶媒抽出法

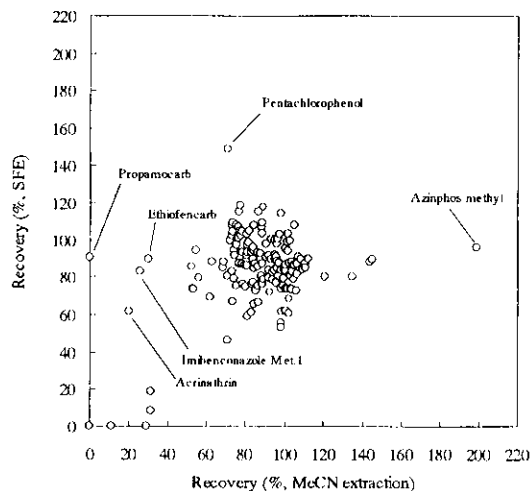


図1 試験方法の概略

A. Tomato



B. Spinach



C. Lemon

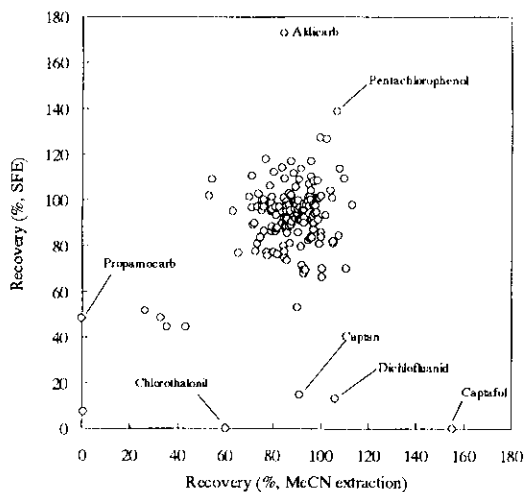
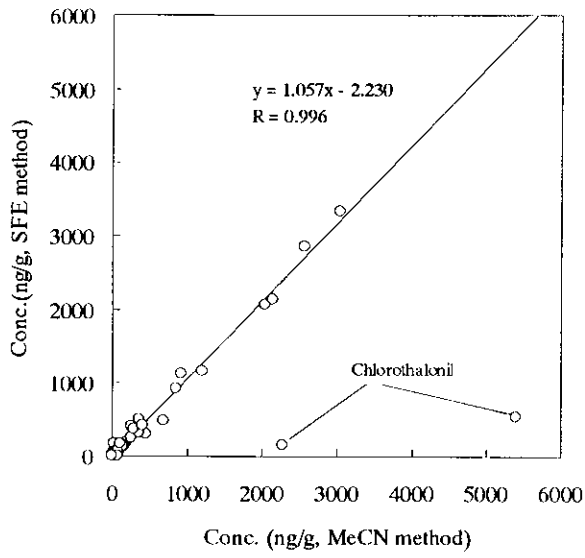


図2 SFE法と有機溶媒抽出法の回収率の比較

A



B

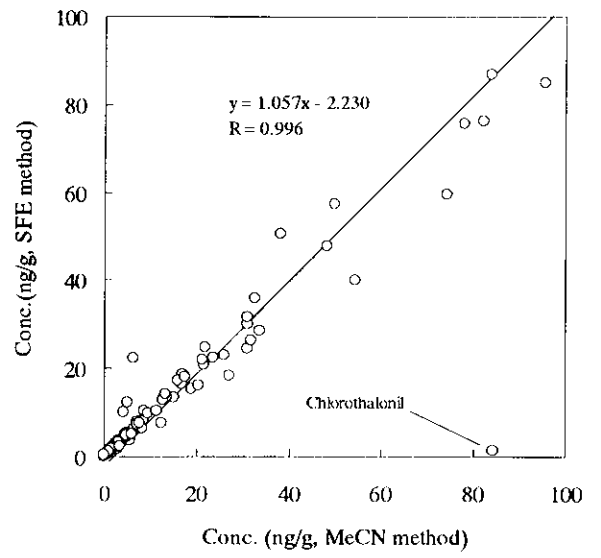


図3 SFE法と有機溶媒抽出法の分析値の比較

A: 0-6000 ng/g, B: 0-100 ng/g

回帰式及びR値はクロロタロニルを除いて求めた。