

資料

GCによる野菜中のフルスルファミドの分析について

杉村 光永, 豊田 安基江, 金森 久幸

Determination of Flusulfamide in Vegetables by Gas-chromatography

MITSUNORI SUGIMURA, AKIE TOYOTA and HISAYUKI KANAMORI

(Received Oct. 6, 2003)

スルホンアミド系殺菌剤フルスルファミドの電子捕獲型検出器付ガスクロマトグラフ (ECD-GC) による分析方法を検討した。

本農薬を農産物からアセトンで抽出し, n-ヘキサン:酢酸エチル混液に転溶後, トリメチルシリルジアゾメタン (TMS-DM) でメチル化した。合成ケイ酸マグネシウム (フロリジル) を充填したカラムで精製し, ECD-GCで分析したところ, 妨害のない良好なクロマトグラムが得られた。5農産物への添加回収試験では, 回収率が78.0~102.2% (CV%=0.8~5.2, n=3) と良好な結果が得られた。また, ガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC-MS) による定性試験で, 試料中のフルスルファミドのマススペクトルが標準品とほぼ一致することを確認した。

キーワード: フルスルファミド, トリメチルシリルジアゾメタン (TMS-DM), ECD-GC, GC-MS.

緒 言

フルスルファミドはスルホンアミド系の農薬で, 土壤伝染性病害のアブラナ科植物根のこぶ病, ばれいしょのそうか病に対して土壌処理により防除効果を示す殺菌剤である[1]。

本農薬は, 平成4年11月に農薬取締法で新規に登録され, 登録保留基準が定められ, さらに平成8年9月には, 食品衛生法で農産物中の残量基準値が定められた。

食品衛生法の告示分析法 (公定法) では, メチル化剤にジアゾメタンを用い, 抽出溶媒には, 排水基準値が定められているジクロロメタンを使用している。また, フルスルファミドのメチル化の前後にシリカゲル及びフロリジルの2種類のオープンカラムを用いて精製操作を行うために, 操作が比較的煩雑である[2]。

今回, 厚生労働省の「食品残留農薬実態調査」への参加を契機として, 農薬のメチル化剤をTMS-DMに変更し, メチル化の条件を検討するとともに, 使用する抽出溶媒等についても検討を試みた。その結果, 公定法に比べて, ECD-GCによる比較的簡易な分析方法とすることが出来たので報告する。

実験方法

1 試料

広島県内市場で購入したばれいしょ, かぶ (根, 葉), はくさい, キャベツ及びブロッコリー (外国産, 国産)

の計5農産物。

2 試薬等

- (1) 標準物質: 和光純薬工業(株)製
- (2) メチル化剤 (TMS-DM): Aldrich Chem. Co.製.
- (3) その他の試薬等: 公定法に準じた。

3 装置

- (1) ECD-GC装置: Hewlett Packard社製HP-6890
- (2) GC-MS装置: Hewlett Packard社製HP-5971A

4 分析条件

次の条件で, ECD-GCによる定性・定量及びGC-MSによる定性分析を行った。

(1) ECD-GC分析条件

カラム: DB-5 ms (J & W社製) 0.25mm×30m (d. f.: 0.25µm), 注入口温度: 250°C, 検出器温度: 300°C, カラム温度: 150°C (1 min)- (8°C/min)-230°C (1 min)- (1.5°C/min)-240°C- (1°C/min)-245°C- (40°C/min)-300°C (1 min), 注入方法: スプリットレス, 注入量: 1 µL

(2) GC-MS分析条件

カラム: DB-5 ms (J & W社製) 0.25mm×30m (d. f.: 0.25µm), 注入口温度: 250°C, トランスファーライン温度: 280°C, カラム温度: 150°C (1 min)- (8°C/min)-230°C (1 min)- (1.5°C/min)-245°C- (40°C/min)-300°C (5 min), イオン化電圧: 70eV, 注入方法: スプリット

レス, 注入量: 2 μ L

5 試験溶液の調製方法

図1に示した.

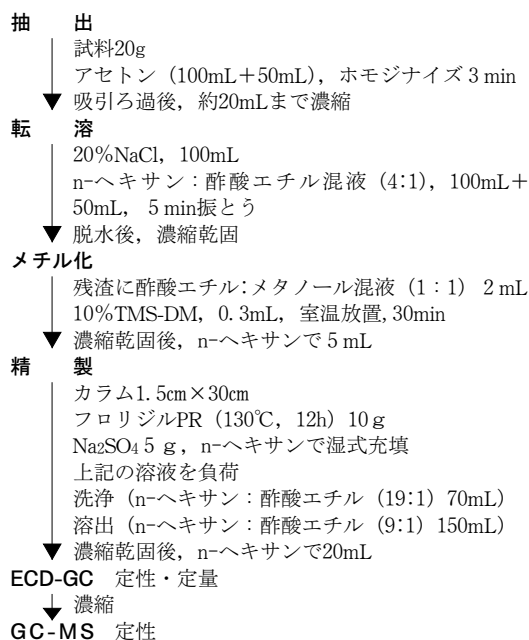


図1 試験溶液の調製方法

結果及び考察

1 TMS-DMによるメチル化の検討

メチル化の反応溶媒は, 公定法に準じ, 酢酸エチル:メタノール混液 (1:1) とし, 条件を検討した. TMS-DMはn-ヘキサンで10%溶液に調製して用いた.

(1) 添加量

メチル化剤の添加量を検討するため, フルスルファミド10 μ gを反応溶媒2mLに溶解し, TMS-DMの添加量 (0.05~0.5mL) を変えて, 30分間室温で反応させた. 0.05mL以上でメチル化が完了した (表1).

したがって, 試験溶液への添加量は, 各試料の夾雑物の影響を考慮し, メチル化が完了する十分な量の0.3mLとした.

表1 TMS-DMの添加量とフルスルファミド (メチル化) の生成量

添加量 (mL)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
生成量*	0.99	0.99	1.01	1.00	0.99	1.03

反応条件: 室温, 30min, フルスルファミド量: 10 μ g

*TMS-DMを0.3mL添加した時の生成量を1とした.

(2) 反応時間

反応時間を検討するため, フルスルファミド10 μ gを反応溶媒2mLに溶解し, TMS-DMを0.3mL添加し, 反応時間 (5~120min) を変えて室温で反応させた. TMS-DM添加から30分後にメチル化が完了した (表2).

したがって, 反応時間を室温で30分間とした.

表2 反応時間毎のフルスルファミド (メチル化) の生成量

時間 (min)	5	15	30	45	60	120
生成量*	0.91	0.92	1.00	0.98	1.01	0.99

反応条件: TMS-DM0.3mL添加, 室温 フルスルファミド量: 10 μ g

*反応時間30minの生成量を1とした.

(3) メチル化の安定性

フルスルファミドのTMS-DMでのメチル化物質が, ジアゾメタンでメチル化した場合と同様の安定度でクロマトグラム (ECD-GC分析) が得られるか試みた. フルスルファミド10 μ gをとり, ジアゾメタンでのメチル化は公定法に準じて, TMS-DMによるメチル化は今回の条件で平行試験 (n=3) を行った. ECD-GCによる分析では, それぞれ繰り返し分析 (n=3) を行った. その結果から面積値の変動係数 (CV%) を算出したところ, ジアゾメタンでCV%が4.3で, TMS-DMでは3.8であった.

(4) クロマトグラム

メチル化剤にTMS-DMを用いたときのフルスルファミド (メチル化) のクロマトグラム (ECD-GC分析) を図2に示した. 特に, 分析の支障となるピークは現れなかった.

2 検量線

フルスルファミド0.1~4 μ gの数をとり, TMS-DMでメチル化し, 20mLの溶液に調製した後, 4(1)の条件で分析した. 0.005~0.2ngの範囲で良好な検量線 (r=0.9992) が得られた. この時の最小検出量は0.005ngであった.

3 転溶溶媒の検討

公定法では, 転溶溶媒にジクロロメタンを使用しているが, ジクロロメタンと同程度の回収率が得られる他の有機溶媒について検討した. 公定法と同様の20%塩化ナトリウム溶液100mLに, フルスルファミド10 μ g/mLを1mL添加し, 各有機溶媒で2回 (100+50mL) 抽出し, TMS-DMでメチル化後, ECD-GCで分析したところ, n-ヘキサンでは, 回収率が, 93.3% (n=3) であったが, n-ヘキサン:酢酸エチル混液 (4:1) とすることで, 回収率が98.2% (n=3) と良好な結果が得られた (表3).

したがって, n-ヘキサン:酢酸エチル (4:1) 混液を用いて2回 (100mL+50mL) 抽出することにした.

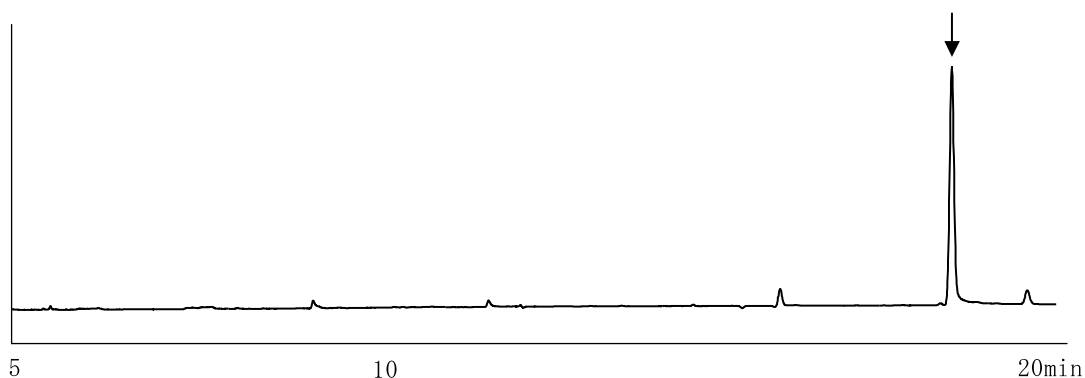


図2 フルスルファミド (メチル化) のクロマトグラム

ECD-GC条件

カラム: DB-5ms (0.25mm×30m (d.f.: 0.25μm)), 注入口温度: 250°C, 検出器温度: 300°C,
 カラム温度: 150°C (1 min)- (8°C/min)-230°C (1 min)- (1.5°C/min)-240°C- (1°C/min)-245°C- (40°C/min)-300°C (5 min)
 注入方法: スプリットレス, 注入量: 1 μL フルスルスファミド量: 0.05ng

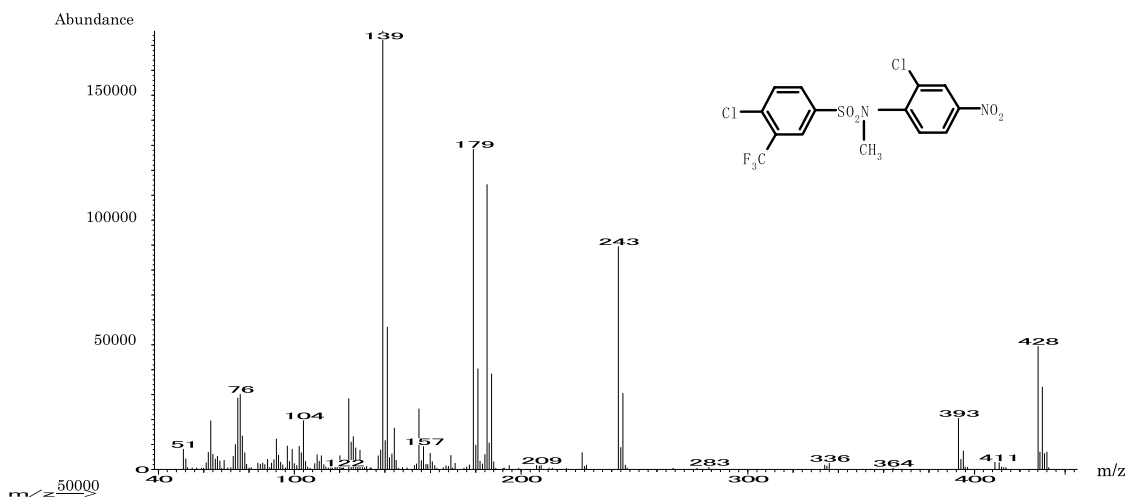


図3 フルスルファミド (メチル化) のマススペクトル

GC-MS条件

カラム: DB-5ms (0.25mm×30m (d.f.: 0.25μm)), 注入口温度: 250°C, トランスファーライン温度: 280°C,
 カラム温度: 150°C (1 min)- (8°C/min)-230°C (1 min)- (1.5°C/min)-245°C- (40°C/min)-300°C (5 min),
 イオン化電圧: 70eV

表3 転容溶媒毎のフルスルファミドの回収率

溶 媒	回収率 (%)※
n-ヘキサン: 酢酸エチル (4: 1)	98.2
n-ヘキサン	93.3
ジエチルエーテル	38.8
ジクロロメタン	100.1

※n=3の平均値

20% NaCl溶液100mLにフルスルスファミドの10μg/mLを1 mL添加し, 各有機溶媒で2回 (100+50mL) 抽出した。

4 抽出溶媒の選択

フルスルファミドを試料から抽出する溶媒は, 公定法ではメタノールを用い, 残留農業分析法ではアセトンを用いている[1][2]. そこで, 試料20g (かぶの葉) にフルスルファミド1μgを添加し, 図1に示す方法で, 抽出溶媒のみをメタノールとアセトンに変えて添加回収試験を行ったところ, メタノールで回収率が90.9% (CV%

=5.0, n=3), アセトンでは, 回収率が92.8% (CV%=5.2, n=3) と両溶媒ともに, ほぼ同様の結果が得られた. 以上のことから, 今回, メタノールに比べて溶媒留去が容易なアセトンを用いることにした.

5 精製操作

公定法には, メチル化の前にシリカゲルカラムによる精製操作を行う方法が示されている. 今回, この操作が省略可能か試みた. なお, メチル化後のフロリジルカラムによる精製操作は, 公定法に準じて行った. 各試料について, 図1に示す方法で試験溶液を調製し, ECD-GCで分析した. 各試験溶液のクロマトグラムを見ると, 今回の試料においては, メチル化前のシリカゲルカラムによる精製操作を省略しても, 分析に支障となるピークは

現れなかった (図4).

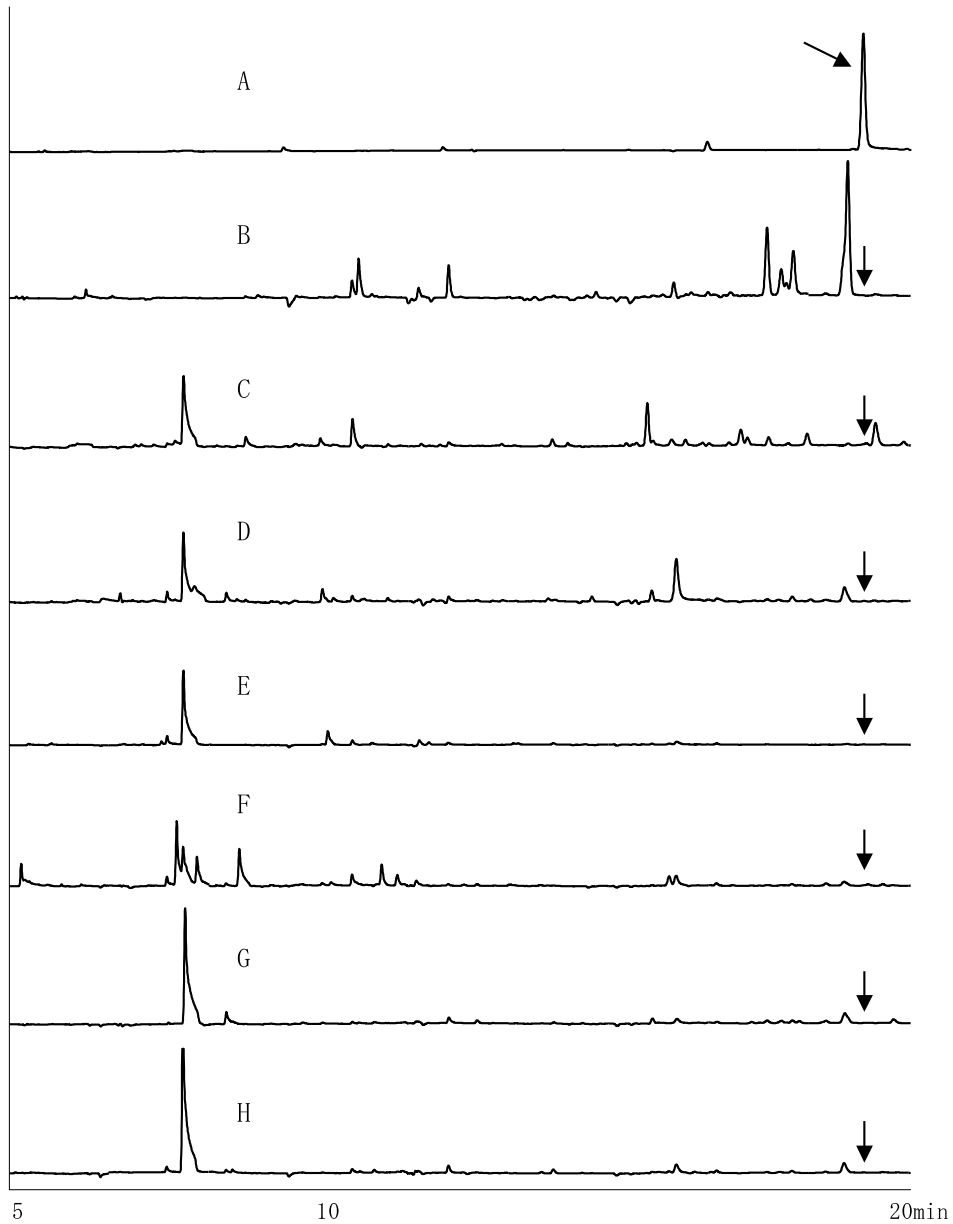


図4 各試験溶液のクロマトグラム

A:フルスルファミド (メチル化) B:ばれいしょ C:かぶ (根) D:かぶ (葉) E:はくさい F:キャベツ
G:ブロッコリー (国産) H:ブロッコリー (米国产)

6 添加回収試験

各試料に, 0.05 $\mu\text{g/g}$ となるようフルスルファミドを添加し, 図1に示す方法で試験溶液を調製し, 添加回収試験を行ったところ, 回収率78.0~102.2% (CV%=0.8~5.2, n=3) と良好な結果が得られた (表4).

表4 添加回収試験

農産物名	回収率 (%)※	変動係数 (%)
ばれいしょ	78.0	3.7
かぶ (根)	100.4	2.9
かぶ (葉)	92.8	5.2
はくさい	102.2	2.1
キャベツ	93.2	3.3
ブロッコリー (国産)	101.1	1.5
ブロッコリー (米国产)	92.9	0.8

※: 0.05 $\mu\text{g/g}$ 添加, n=3

7 GC-MSによる確認

各試料にフルスルファミドを食品衛生法の残留農薬基準値 ($0.1 \mu\text{g/g}$, ばれいしょは $0.05 \mu\text{g/g}$) となるよう添加し, 図 1 に示す方法で試験溶液を調製し, GC-MS で分析した. その結果, マススペクトルが標準品とほぼ一致することを確認した.

文 献

- [1] ソウトサイエンス社: 2002年版残留農薬分析法, p269-270.
- [2] 新日本法規出版株式会社: 食品衛生小六法, 平成15年版, 食品の規格基準 (D条) .