

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 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)を用いた穀類中の残留農薬の一斉分析法を確立した。玄米に87農薬を添加して、各種SFE条件が抽出効率に与える影響について検討し最適な条件を選択した。メタノールなどのモディファイヤーの効果についても検討したが、添加により回収率がむしろ減少したためモディファイヤーは添加しない方がよいことがわかった。最適化したSFE条件を用いて、小麦、玄米、そば及びトウモロコシからの添加回収実験を行ったところ概ね80%以上の良好な回収率が得られた。また、試験溶液の調製時間は溶媒抽出法より大幅に短縮されかつ操作も簡略化された。更に、穀類試料に対するSFE法の実用性を検証するために従来の溶媒抽出法との比較を行った。比較は、128農薬（有機塩素系農薬16、ピレスロイド系農薬12、カーバメート系農薬15、有機リン系農薬43、その他42）を用いた添加回収実験のほか、実際の検体（玄米、小麦、大麦及びトウモロコシ）中の残留農薬をSFE法と溶媒抽出法で求め両者の測定値を比較した。その結果、極性の高い一部の農薬に対してはSFE法は低い測定値を与えるものの、検出された多くの農薬に対しては溶媒抽出法と同等の結果となったことから、SFE法は穀類中の残留農薬分析において実用性のある方法であると考えられる。

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179農薬に対して農作物中の残留農薬基準が設定されており、さらに毎年約20農薬の基準値が追加設定されることが予定されている。このような多くの農薬について、基準値への適合性を検査するには多大な労力と時間を要する。残留農薬の分析は以前は個別分析法が多かったが、これに対しては系統的分析法の導入によりまず迅速化が図られた。この系統的分析法では元素選択的検出器により化学構造毎に農薬を測定しているが、ガスクロマトグラフ-質量分析計(GC-MS)の使用により化学構造によらず多数の農薬を同時に測定することが可能になり、更に迅速化が進むことが予想される。機器測定 of 迅速化・効率化はGC-MSの導入によりあ

る程度達成できるが、これまでの溶媒抽出法に基づく分析方法では抽出・精製過程の迅速化は不十分であった。残留農薬分析の一層の迅速化・省力化を図るためには抽出・精製過程の迅速化が不可欠であり、そのための新技術の導入の検討が必要である。

一方、近年、溶媒抽出に代わる方法としてSFEが注目されてきた。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新規な抽出手段である。従来の溶媒抽出法では、得られた抽出液のクリーンアップに多くの手間と時間を要するが、SFEは選択的に対象物質を抽出することが可能であるためクリーンアップは不要か大幅な簡略化が可能となる。従って、SFEを用いることにより分析時間の大幅な短縮が期待される。また、SFEは従来の溶媒を用いた抽出方法に比較して溶媒の使用量が非常に少なく、廃液処理

や従事者に対する安全性の問題が大きく改善されることが期待されるほか自動化が可能であるなどの利点がある。

そこで、残留農薬分析における抽出・精製過程の迅速化と省力化を図る目的で、SFEの残留農薬分析に対する応用について検討した。検討は、SFEがこれまで主に土壌などの固体試料に応用されてきたことを考慮して、まず穀類試料を用いて行った。検討に当たっては、添加回収実験に加え、実際の検体中の残留農薬を測定し、SFE法と従来の溶媒抽出法を比較し実用性を検証した。

B. 研究方法

1. 試料

輸入の小麦、大麦、トウモロコシ及び国産の玄米、ソバを用いた。試料は遠心粉碎器(日本精機製作所製)で0.25 mmのメッシュスクリーンを用いて粉碎した。

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、ジエチルエーテル(エーテル)、シクロヘキサン、酢酸エチル(EtOAc)、メタノール、エタノール及び無水硫酸ナトリウムは残留農薬分析用試薬(和光純薬工業(株)製)を使用した。NaClは和光純薬工業(株)製の試薬特級を使用した。水はMilli-Q(Millipore社製)水を使用した。SFEでは純度99.999%の液化炭酸ガス(CO₂)を抽出用に、また純度99.99%のCO₂を冷却用に使用した。

農薬標準品：有機塩素系16農薬、有機リン系43農薬、ピレスロイド系12農薬、カーバメート系15農薬及びその他42農薬の合計128農薬について検討した。標準品は、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(-20°C)に保存した。

農薬標準混液：各農薬標準原液をとり、アセトンで10 µg/mL(アセフェート、アセタミプリド、アルジカルブ、カプタホール、イミベンコナゾール脱ベンジル体、イプロジオン、イプロジオン代謝物、メタミドホス及びバミドチオンは50 µg/mL)の濃度に調製し、冷凍庫(-20°C)に保存した。

固相抽出(SPE)カートリッジカラム：Varian社製 Bond Elut[®] PSA (500 mg)及びBond Elut[®] SAX(500 mg)、Waters社製のSep-Pak[®] Plus Silica(690 mg)、Sep-Pak[®] Plus Florisil(910 mg)、Sep-Pak[®] NH₂(500 mg)、Sep-Pak[®] CN (360 mg)、Sep-Pak[®] QMA(360 mg)及びSep-Pak[®] Diol (360 mg)を使用した。

ケイソウ土カラム：Varian社製のChem Elut[®] CE1020を使用した。

3. 装置

SFE装置：Hewlett Packard社製 HP7680T

ガスクロマトグラフ：Hewlett Packard社製 HP5890 SERIES II (同社製、オートサンプラーHP7673付)。

質量分析計：Hewlett Packard社製 HP5972

ゲル浸透クロマトグラフ(GPC)：(株)島津製作所製の液体クロマトグラフ用ポンプ LC-6A、オートインジェクターSIL-10A、UV検出器SPD-6 AV、フラクションコレクターFRC-10A、記録計C-R2AX及びシステムコントローラーSCL-10Aを使用した。

4. SFE操作条件

最終的なSFE条件を以下に示した。

試料量：4 g、CO₂密度：0.70 g/mL、抽出温度：40°C、圧力：115 bar(1668 psi)、CO₂流速：2.0 mL/min、平衡化時間：3 min、抽出時間：30 min、ノズル温度：45°C、トラップ：30-µm Hypersil octadecylsilane (ODS)、トラップ温度：

30°C, 抽出管容積: 7 mL. トラップはMeCN 1.8 mL (2 mL/min)で溶出し, これをSFE抽出液とした. 更にトラップは50% アセトン含有ヘキサン(A/H) 3.0 mL (2 mL/min), 続いてMeCN 3.0 mL (2 mL/min)で洗浄及びコンディショニングを行った.

5. GPC操作条件

分取用GPCカラム: Waters社製 Envirogel GP C Clean-Up カラム (内径19 mm, 長さ150 mmのカラムと内径19 mm, 長さ300 mmのカラムを連結して使用, EtOAc/シクロヘキサン(1:1)で充填), 移動相: EtOAc/シクロヘキサン(1:1), 流速: 5.0 mL/min, 注入量: 4.0 mL, 分取画分: 14~27分 (合計65 mL)

この条件で分取を開始するフルバリネート及び最後に溶出するトリシクラゾールの回収率はいずれも90%であった. なお, アクリナトリンは13~14分に約70%溶出するが, クリーンアップ効果を優先し分取の開始を14分とした. また, GPCカラムからの溶出はUV 254 nmでモニターした.

6. GC-MS測定条件

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 μ m), ガードカラム: J&W Scientific社製の不活性化キャピラリーカラム (内径0.25 mm, 長さ1 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: 310°C, キャリヤーガス: ヘリウム, キャリヤーガス圧カプログラム: 7.5 psi-99 psi/min-40 psi(0.1 min)-99 psi/min-7.5 psi (定流量モード, 1 mL/min), 注入量: 2 μ L (スプリットレス), イオン化電圧: 70 eV (EIモード), 測定モード: 選択イオンモニタリング(SIM)モード (モニターイオンは表 1に示した.) 及びSCANモード (SCAN範囲: 50-550 amu)

7. 試験溶液の調製

7-1. SFE法

試料4 gを抽出管に充填し, SFE装置にセットして抽出した. この時, 抽出管の両端に試料の微粒子による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. また, モディファイヤーを添加する場合には抽出管内に直接添加した. 添加回収実験では, 試料4 gをビーカーにとり, 農薬標準混液40 μ Lを添加 (試料中0.1または0.5 μ g/g)して室温で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. 得られたSFE抽出液は窒素気流で溶媒を除去した後, 残留物を50% A/H 2 mLに溶解し, あらかじめ50% A/H 10 mLで洗浄したPSAカートリッジカラムに注入し, 50% A/H 20 mLで溶出した. 溶出液は溶媒を留去後, アセトン2 mLを加えて溶解しこれを試験溶液とした.

また, トウモロコシ及びソバ試料の場合には, PSAカラムのみではキャプタン, メトブレン及びトリアジメノールは妨害ピークのため定量困難であったため, これらを定量する場合には更にシリカゲルカラムを用いてクリーンアップを行った. 即ち, PSAカラムクリーンアップ後の試験溶液1 mLをとり溶媒を除去した後, 2% エーテル含有ヘキサン(E/H) 1 mLに溶解し, あらかじめ2% E/H 10 mLで洗浄したシリカゲルカートリッジカラムに注入し, まず2% E/H 15 mLで溶出しこの画分は捨て, 次に30% A/H 15 mLで溶出した. 溶出液は溶媒を留去後, アセトン 1 mLを加えて溶解しこれを試験溶液とした. なお, Scheme 1. に方法の概略を示した.

7-2. 溶媒抽出法

溶媒抽出法は, 厚生省通知「残留農薬迅速分析法の利用について」¹⁾に示された方法をもとに抽出溶媒をアセトンから35%含水MeCNに変更し, GPC後のカートリッジカラムによるクリーンアップにPSAを使用するなど一部変更して実

施した。即ち、試料10 gをとり35%含水MeCN 60 mLを加えて5分間振とう抽出後、吸引ろ過し、MeCN 30 mLでろ紙上の残さを洗浄した。抽出液を約20 mLに濃縮した後、NaCl 6 gを添加しよく攪拌後、全量をケイソウ土カラムに注入した。10分間放置後、EtOAc 150 mLで溶出し、溶出液の溶媒を留去した。この時水が残留した場合には、EtOAcを10 mL加え、更に無水硫酸ナトリウムを適量加えて脱水した後、ろ過して無水硫酸ナトリウムを除き、容器及びろ紙上の残さをEtOAc 5mLで3回洗い込んだ後、溶媒を留去した。残留物をEtOAc/シクロヘキサン(1:1) 10 mLに溶解し、3000 rpmで5分間遠心分離した。上清4 mL(試料4 g相当)をGPCカラムに注入し、EtOAc/シクロヘキサン(1:1)で溶出した。GPC溶出液の溶媒を除去後、残留物を50% A/H 2 mLに溶解し、あらかじめ50% A/H 10 mLで洗浄したPS Aカートリッジカラムに注入し、50% A/H 20 mLで溶出した。溶出液の溶媒を留去後、アセトン2 mLを加えて溶解しこれを試験溶液とした。なお、Scheme 1. に方法の概略を示した。

8. 定性・定量

各試験溶液をGC-MSに注入しSIMモードで測定し、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。

9. 確認試験

農薬が検出された場合にはSCAN測定を行い、標準品のマススペクトルと比較して確認を行った。また、濃度が低くSCAN測定ではマススペクトルが得られない場合には、1農薬につき5つのフラグメントイオンをモニターしてSIM測定を行い標準品と比較し、3つ以上のイオンの強度比が一致した場合に測定値を求めた。

C. 研究結果

1. SFE法の開発

SFE法の開発に当たっては、表2に記載の87農薬を玄米に添加して、様々なSFE条件下での

回収率を求めて最適な条件を検討した。

1-1. CO₂密度の検討

CO₂密度の影響を検討するために、密度0.3, 0.5, 0.7及び0.85 g/mL(40°Cにおける圧力はそれぞれ81, 91, 115及び211 bar)における玄米からの農薬の回収率を求めた。図1にはその代表的な結果を示した。大部分の農薬は0.3 g/mLでは回収されなかったが、多くの農薬は図1に示したヘプタクロールのように0.5 g/mL以上であるいはジメトエートのように0.7 g/mL以上でほぼ一定の回収率となった。フルバリネートの回収率は0.7 g/mLまで上昇した後0.85 g/mLでは減少した。この0.85 g/mLでの回収率の減少はこのほか多くの農薬でもみられた。0.85 g/mLでは回収率は上昇しないかむしろ減少する傾向がみられたため、CO₂密度は0.7 g/mLが適切と思われる。

1-2. 抽出温度の検討

抽出温度の影響について検討するため、40, 50, 60及び70°Cにおける玄米からの農薬の回収率について検討した。その結果、温度による大きな回収率の変化は見られなかったが、図2に示したヘプタクロール、ジメトエート及びフルバリネートなどのように60°Cから70°Cで回収率が減少する傾向がみられた。また、図2に示したようにキャプタン及びカプタホールでは、60°C以上で大きな減少が認められた。このように60°C及び70°Cでは回収率が減少する傾向があり、また、40°Cと50°Cでは回収率にほとんど差がなかったことから抽出温度は40°Cとした。

1-3. 試料量の検討

抽出に用いる試料量の検討を玄米2 g及び4 gを用いて実施した。なお、用いた抽出管(7 mL)では玄米試料は5 gをとることはできなかった。個々の農薬については、2 gと4 gで回収率に大きな差は見られなかったので、図3には各農薬群毎に回収率の平均値を示した。その結果4 g

でやや回収率が低くなる傾向が見られたが両者に大きな差は認められなかった。サンプリングの均一性を考慮した場合、試料量はできるだけ多いほうがばらつきが少なくなるので試料量は4 gを用いることとした。

1-4. 抽出時間の検討

抽出時間について、10~40分の範囲で検討した。なお、いずれの場合にも抽出の平衡時間は3分とした。大部分の農薬は図4に示したフェノバルブやパラチオンなどと同様に10から20分でほぼ一定の回収率となった。しかし、レナシルは10分では回収されず、30分以上でほぼ一定の回収率となった。この結果から抽出時間は30分とした。

1-5. トラップからの溶出条件の検討

SFEにより抽出された農薬は、ODSトラップで捕集される。このとき農薬以外の夾雑物も一緒に捕集されるが、トラップからの溶出条件を選ぶことにより農薬と妨害になる夾雑物を分けて溶出できる可能性がある。そのため、ODSトラップからの溶出に用いる溶媒の検討を行った。アセトンとMeCNについて検討したところ、アセトン 1.5 mLまたはMeCN 1.8 mLで農薬は完全にトラップから溶出された。次に、ODSトラップから農薬と一緒に溶出される夾雑物量について、アセトンとMeCNで比較した。即ち、玄米を用いてSFEを行い、トラップに捕集された抽出物をそれぞれアセトン及びMeCNで溶出し、それぞれの溶出物の重量を比較した。その結果、アセトンでは約25 mgであったのに対し、MeCNでは約4 mgとアセトンの場合の6分の1以下と少なく、MeCNのほうがクリーンアップ効果が期待された。このことから、農薬の溶出溶媒にはMeCNが適していると思われた。

次にトラップの洗浄溶媒について、アセトン、EtOAc及びヘキサンについて検討したところ、ヘキサンが最も速くトラップ内の夾雑物を溶出

し、アセトンとEtOAcは同程度であった。ヘキサンでは農薬の溶出に用いるMeCNとは混和しないので、トラップの洗浄には50% A/Hを用いることとした。なお、このときトラップ内の夾雑物は50% A/H 3 mLで溶出された。以上の結果から、トラップからの農薬の溶出にはMeCN 1.8 mLを用い、50% A/H 3 mLで洗浄したのち、MeCN 3 mLで次の抽出のためにコンディショニングすることとした。

1-6. SFE抽出液のクリーンアップ法の検討

穀類試料のSFE抽出液をそのまま測定したのでは、図5に示した小麦やトウモロコシの例のように、16分付近に大きなピークが認められ、定量が妨害された。そこで、カラムクリーンアップについて検討を行った。検討には2. 試薬及び試液に記載した各種SPEカートリッジカラムを用いた。その結果、PSA及びNH₂がクリーンアップ効果が高かったが、NH₂はキノメチオネートが全く回収されなかったのに対して、PSAは低回収率ながら20~30%回収されたことからPSAを選択した。PSAカラムを用いた場合、農薬は50% A/H 20 mLで溶出された。また、図5に示したようにPSAにより大きな妨害ピークを除くことができた。小麦及び玄米ではPSAのみで問題なく定量が可能だったが、トウモロコシでは15.5分付近にメトブレン、トリアジメノール及びキャプタンの定量を妨害するピークが認められた。この妨害ピークはそばでも観察された。そこで、この妨害ピークを除く方法について更に検討した結果、シリカゲルカラムを用いることにより妨害ピークと分離して定量する事が可能であった。図6にメトブレンの例を示した。PSAカラムクリーンアップのみではメトブレンの溶出位置に妨害ピークがみられたが、シリカゲルカラムを用いて2% E/H 15 mLで溶出することにより妨害ピークは溶出し、メトブレンは30% A/H 15 mLで溶出され良好に定量できた。

トリアジメノール及びキャプタンも同じ方法で定量可能であった。

1-7. モディファイヤーの検討

SFEでは抽出効率を上げるために、メタノールなどの溶媒をモディファイヤーとして流体あるいは試料に直接添加することが行われる。そこでモディファイヤーの効果について、メタノール、エタノール、MeCN、アセトン及びヘキサンについて検討した。これらの溶媒をそれぞれ0.2 mLずつ玄米試料に添加しSFEを行い回収率を求めた。その結果、いずれの溶媒を用いても回収率は添加しない場合と同じか、むしろ減少する傾向が見られたため、穀類試料のSFEにはこれらの溶媒のモディファイヤーは添加しないこととした。

1-8. 添加回収実験

確立したSFE法を用いて添加回収実験を行った。表2には玄米、小麦、トウモロコシ及びソバを用いてSFE法で87農薬について添加回収実験を行ったときの結果を示した。また、表3には回収率毎に農薬数を示した。その結果、メタミドホス、アセフェート、アミトラズ及びキノメチオネートが検討した4作物で回収率が50%未満であり、更にレナシルがトウモロコシ及びソバで50%未満であった。ただし、キノメチオネートの低回収率はPSAカラムからの回収率が低いため、PSAカラムクリーンアップを行わなければ90%以上の回収率であった。また、回収率が50~70%とやや低回収率だったのは小麦でのキャプタン、カプタホール、ジクロフルアニド、レナシル及びトウモロコシとソバでのジメトエートであった。検討した87農薬のうち約80農薬はいずれの作物でも70%以上（うち約75農薬は80%以上）の良好な回収率が得られた。

2. SFE法と溶媒抽出法の比較

2-1. 添加回収率の比較

従来の溶媒抽出法とSFE法を比較するために

128農薬を用いて小麦からの添加回収実験を行い両方法の回収率を比較し、表4にその結果を示した。また、表5には低回収率だった農薬についてまとめて示した。その結果、カプタホール、キャプタン、アミトラズ、キノメチオネート及びジクロフルアニドは両分析法で低回収率であった。カプタホール、キャプタン、アミトラズ及びジクロフルアニドは試料中あるいはGC測定の際に分解することが知られており、これが低回収率の原因と思われる。キノメチオネートの低回収率はPSAカラムクリーンアップにおける損失が原因である。SFE法のみで低回収率であったのは、アセフェート、メタミドホス、アセタミプリド及びトリシクラゾールの4農薬であった。これらの農薬の水溶解度はそれぞれ650000、2000000、4200及び1600 mg/Lで、特に極性の高い農薬であった。このような高極性の農薬に対してはSFEの抽出力は不十分であった。また、溶媒抽出法で低回収率であったのは、アクリナトリン、ブチレート、EPTC、エチオフエンカルブ、ジスルホトン、チオメトン及び2,4-ジクロロアニリンの7農薬であった。このうちアクリナトリンはGPCカラムでの分画による損失が原因である。ブチレート、EPTC及び2,4-ジクロロアニリンは、揮発性が高い農薬であるが、溶媒抽出法では溶媒の留去操作を繰り返し行うため低回収率になったものと考えられる。エチオフエンカルブ、ジスルホトン及びチオメトンは、GPC操作で回収率が減少することが知られており¹⁾これは酸化分解が原因と思われる。そのほかの農薬ではややSFE法のほうが回収率が高い傾向がみられたものの両方で大きな差はみられず、両分析法とも概ね80%以上の良好な回収が得られた。

2-2. 農薬残留試料での比較

穀類試料に対するSFE法の実用性を検証する

ためには、添加回収実験で従来の溶媒抽出法と比較するだけでは不十分であるので、実際に農薬が残留している試料を用いて分析値を比較することが重要である。そこで、玄米、小麦、大麦及びトウモロコシ試料中の残留農薬をSFE法と溶媒抽出法で求め両者の測定値を比較した。表6にその結果を示した。両分析法の測定値の相対標準偏差(RSD)の平均値はSFE法で5.9%、溶媒抽出法で5.5%であり両者に大きな差は見られず、どちらも同程度の分析精度であった。また、個々の農薬について考察するため、SFE法の測定値を溶媒抽出法の測定値で割って両者の比を求め表7にその結果をまとめた。その結果、フェノバルブ及びカルバリルでは比が約0.4となり、SFE法のほうがやや低い測定値を示したが、スクリーニング分析として用いるには許容できる範囲と思われた。しかし、ジクロロボスは比が0.08となり、溶媒抽出法の1/10以下の低値を示した。添加回収実験ではこれら3農薬の回収率は、SFE法と溶媒抽出法とで大きな差は見られなかったことから、測定値が低かった原因を回収率から説明することはできなかった。これら低測定値を示した農薬は比較的極性が高い農薬であったので、農薬の水溶解度との関係に着目し、水溶解度に対して比をプロットした(図7)。その結果、農薬の水溶解度が100 mg/L付近から、溶解度に依存して溶媒抽出法よりSFE法のほうが測定値が低くなり、特に1000 mg/Lを越えるような水溶解度が高い農薬に対しては35%含水MeCNより抽出効率が劣ることが示された。添加回収実験と実際の農薬残留試料とでは、農薬の抽出効率に差が見られることは溶媒抽出法でも知られているが、SFEの場合にはこの現象がより顕著に現れたことが予想される。このことから、SFEを用いた分析法を開発する上で、添加回収実験の結果のみで分析法の性能を判断しないよう注意が必要と思われる。また、図8には溶媒抽出法で求めた

測定値に対してSFE法で求めた測定値をプロットし両者の相関関係を求めた。その結果、回帰直線の傾き及び切片はそれぞれ0.935及び-0.739で、相関係数(r)は0.989であった(ジクロロボスを除いた場合には傾き=0.933, 切片=1.315及び $r=0.990$)。

D. 考察

1. SFE法の開発

玄米に農薬を添加してCO₂密度、抽出温度、試料量、抽出時間などのSFE条件が抽出効率に与える影響について検討し最適な条件を選択した。一般にCO₂密度は高いほうがSFEの抽出力は上昇するとされているが、今回の検討では必ずしも密度が高いほど回収率が高い結果とはならなかった。恐らく密度が高い状態では抽出物量が多くなりそのためトラップが飽和され、農薬を保持しきれなくなったことが原因と考えられるが、詳細については不明である。これについては、装置のトラップ部分の構造と抽出物のトラップ効率に関する検討が今後必要であると思われる。

また、土壌試料などではモディファイヤーの添加によって極性の比較的高い農薬の回収率が上昇することが知られている²⁾が、玄米を用いた検討では、モディファイヤーとして溶媒を添加することにより回収率がむしろ減少した。結果的に穀類ではモディファイヤーを添加しなくても良好な回収率が得られたが、これは、土壌などと異なり穀類ではその含有成分がモディファイヤーとして作用しているためと思われる。SFEでは水が効果的なモディファイヤーとして働くことが報告されている¹⁾ことから、玄米中の水分がモディファイヤーとして作用していることが考えられるが、そのほかの成分を含むメカニズムの詳細については不明で今後検討が必要と思われる。

最適化したSFE条件を用いて、玄米、小麦、

トウモロコシ及びそばからの添加回収実験を行ったところ大部分の農薬で概ね80%以上の良好な回収率が得られ、種類によらず穀類に対してSFE法は広く適用可能であると思われた。また、試験溶液の調製にかかる時間はSFE法は1検体約1.5時間で、溶媒抽出法の4～5時間より大幅に短縮された。また、SFEは選択的に抽出を行うことができるため、得られた抽出液は溶媒抽出法よりも夾雑物が少なくそのためクリーンアップも簡略化された。更にSFE法は自動化できるため分析法の迅速化・省力化に大きく寄与するものと思われる。

2. SFE法と溶媒抽出法の比較

穀類試料に対するSFE法の実用性を検証するために小麦を用いた添加回収実験及び実際の農薬残留試料を用いて、従来の溶媒抽出法との比較を行った。その結果、本研究で開発したSFE法は水溶解度が1000 mg/Lを越えるような極性の高い農薬に対しては抽出力が低く分析対象外とせざるを得ない。水溶解度が10～1000 mg/Lの農薬は境界領域の農薬であり、農薬や作物の種類によってばらつきが大きくなったり、測定値がやや低くなることがあるが、スクリーニング分析としては、十分使用可能であると思われる。そのほかの多くの農薬に対してはSFE法は溶媒抽出法と同等の測定値を与えた。以上の結果から、SFE法は穀類中の残留農薬分析におけるスクリーニングを目的とした一斉分析法として実用性のある方法であると思われる。また、この検討の過程で、SFE法では添加回収実験と実際の農薬残留試料とで結果に溶媒抽出法より大きな差が見られる場合があったので、可能な限り実際の農薬残留試料を用いてSFE法の適用範囲に関しては判断する必要があり、今後更にこれらの情報を蓄積する必要があると思われる。

E. 結論

穀類中の残留農薬をSFEで抽出し、GC-MS(SI M)で測定する、迅速な一斉分析法を確立した。SFE法は溶媒抽出法と比較して、水溶解度が1000 mg/Lを越える極性の高い農薬に対しては低い測定値を与え、対象から除外する必要があるが、それより水溶解度が低い農薬に対しては溶媒抽出法とほぼ同等の測定値を与えた。よって、SFE法は穀類試料中の残留農薬分析に対して実用可能な方法であると思われる。また、試験溶液の調製時間は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、残留農薬分析の迅速化・省力化に大きく寄与するものと思われる。

F. 文献

- 1)厚生省生活衛生局長通知，衛化第43号，平成9年4月8日
- 2)Nemoto, S., Sasaki, K., Toyoda, M., and Saito, Y. Effect of Extraction Conditions and Modifiers on the Supercritical Fluid Extraction of 88 Pesticides. *J. Chromatographic Science*, 35: 467-477 (1997)

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
(1)根本 了，佐々木久美子，豊田正武，斎藤行生：農産物中の残留農薬分析に対する超臨界流体抽出の適用－穀類試料について－日本食品衛生学会第72回学術講演会(1996.10)
(2) Nemoto, S., Sasaki, K., Toyoda, M., and Saito, Y.: Multiresidue Analysis of Pesticides in Grains by Supercritical Fluid Extraction and GC/MS(SI Mode):9th Annual California Pesticides Residue Workshop(1997.3.3-6)