

カーバメート系殺虫剤残留分析法の改良とキュウリ果実の残留分析

奴 田 原 誠 克^{*}

An Improved Method for the Determination
of Carbamate Insecticide Residues, and its
Application to Cucumber Fruit.

Masakatsu NUTAHARA^{*}

高 知 県 農 林 技 術 研 究 所

カーバメート系殺虫剤残留分析法の改良とキュウリ果実の残留分析

奴 田 原 誠 克*

An Improved Method for the Determination of Carbamate Insecticide Residues, and its Application to Cucumber Fruit.

Masakatsu NUTAHARA*

はじめに

県下の施設栽培キュウリの主産地の一つである須崎市のビニールハウス内で、昭和45年頃から土壌害虫のトビムシモドキ類が異常繁殖しはじめ、キュウリの根を加害して、甚だしい場合には収穫中のキュウリが枯死する事例もみられ、昭和48年度の被害面積は、約20 haにも及んだ。このため当研究所昆虫研究室は、須崎病害虫防除所の協力を得て防除対策試験に取り組み、カーバメート系殺虫剤の土壌かん注が有効であることを明らかにした（松崎、未発表）。

しかしながら、この薬剤処理は果実収穫中に実施する場合が多いため、土壌から果実へ農薬が移行し残留することが考えられたので、安全性を確認するために残留分析の必要が生じた。

N-メチルカーバメート系殺虫剤の残留分析法としては、Williams (1971) らの総説があるが、最近ではガスクロマトグラフ法がよく用いられている。なかでもわが国では電子捕獲型検出器を使用している場合がほとんどであり、カーバメート剤の加水分解により生じたフェノールと誘導体を作る方法（石井ら、1972；高瀬ら、1973；炭田ら、1970）や、加水分解なしにそのまま誘導体を作る方法（Lau ら、1970；上路ら、1973）などが用いられている。

著者は、このうち Lau ら (1970) の方法が、感度・再現性および農薬の相互分離などの点で最もすぐれていると考え、この方法を日本で使用されているカーバメート剤に適用した上路ら (1973) の方法の一部を改良して採用することにした。すなわち、分析操作のうち特にクリーンアップ法・誘導体生成反応条件などを改良して、キュウリに残留する6種のN-メチルカ

ーバメート系殺虫剤の分析に適用したところ満足できる結果を得たので、その方法を報告する。なお、トビムシモドキ類の防除試験を行ったビニールハウスのキュウリ果実と土壌について分析した結果も併せて報告する。

本文を発表するに当たって分析試料の調整に協力していただいた当研究所昆虫研究室、須崎病害虫防除所ならびに須崎市農協営農指導課の各位に対して深謝する。また、本実験の全般にわたり指導していただいた当研究室の山本公昭室長ならびに分析に協力していただいた鍋島和夫主任研究員に謝意を表する。

試薬および装置

1. 試薬

n-ヘキサン：市販1級品を水酸化カリウムの存在下で蒸留した。

アセトニトリル：市販1級品に五酸化リンおよびリン酸を添加して蒸留した。

その他の有機溶媒：市販特級品をそのまま蒸留した。フロリジル：130℃で5時間以上活性化した。

無水トリフルオロ酢酸・ピリジン・無水硫酸ナトリウムおよび塩化ナトリウム：市販特級品

カーバメート剤：MTMC、MIPC、XMC、BPMC、MPMC および carbaryl の6種化合物の精製したものを標準品とした（含量95%以上のもの）。

2. 装置

ガスクロマトグラフ：島津GC-5A (ECD, ^{63}Ni)

分 析 操 作

1. キュウリよりの残留分析法

均一化したキュウリ50gにアセトニトリル100ml、セライト10gを加え、3分間ホモナイズしたのち吸ろ過する。残渣をアセトニトリル50mlで洗浄し、ろ液に合わせる。ろ液を500ml分液ロートに移し、飽和食塩

*高知県農林技術研究所 農薬残留研究室

高知農林報 第7号 (1975) 9~14.

Bull. Kochi Inst. Agr. & Forest Sci. No. 7 (1975) 9~14.

水10ml, 水50mlを加え, 塩化メチレンで2度振盪抽出する(100, 50ml). 溶媒層を無水硫酸ナトリウムで脱水し, ろ過後, ロータリーエバポレーター(40℃以下)で極少量まで減圧濃縮し, 通風乾固する. 残渣を約5mlの25%エーテル含有n-ヘキサンに溶解し, 予め調整しておいたフロリジルカラム(10g)に注ぎ込む. まず, カラムを25%エーテル含有n-ヘキサン100mlで洗浄したのち, この液を捨て, 次いでエーテル100mlで溶出させる. このエーテル溶出区分をロータリーエバポレーターで減圧濃縮し, 通風乾固後, 残渣を1mlの酢酸エチルに溶解する. このうち0.2mlを目盛付共栓試験管にとり, ピリジン0.05ml, 無水トリフルオロ酢酸0.2mlを加え, よく混合し, 50℃で30分間加温処理し, N-トリフルオロアセチル化(N-TFA化)を行う. 反応処理後, n-ヘキサン+エーテル(4.5+0.3v/v)混合溶媒を加えて5mlとし, 100mlの分液ロートに移し, 水5mlで3回洗浄する. n-ヘキサン層を5mlに定容し, 脱水してガスクロマトグラフ注入用試料とする.

2. 土壌よりの残留分析法

生土70g(水分含量を測定し, のち乾土に換算する)をとり, アセトニトリル140ml, 水60mlを加え, 3分間ホモジナイズし, 遠心分離(3000rpm, 3分間)により上澄液100mlを分取する. この液を500ml分液ロートに移し, 塩化メチレン抽出を行い, 以下キュウリの場合と同様の操作を行う.

3. 検量線の作成

カーバメート標準品の2.5~10.0ppm 酢酸エチル溶液0.2mlを各々の共栓試験管にとり, ピリジンおよび無水トリフルオロ酢酸によるN-TFA化を行ったのち5mlに定容し, 2 μ l(親化合物として0.2~0.8ngに相当)をガスクロマトグラフに注入し, ピーク高による絶対検量線を用いた.

分析法の検討

1. N-TFA化反応

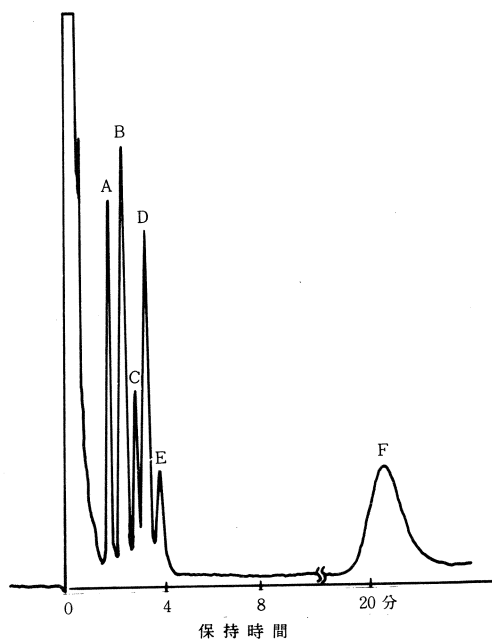
Lauら(1970)の方法を現在日本で使用されているN-メチルカーバメート剤に適用した上路ら(1973)は, N-TFA化反応を促進するために, 50℃の加温処理を行い, 反応時間を3時間に短縮した. しかし, 著者が同様の方法でキュウリより調整したGC注入用試料は, ガスクロマトグラム上で溶媒ピーク直後のベースラインへの回復が遅く, 保持時間があまり長くないMTMCなどには, 分析上好ましくないように思われた.

そこで, 上路ら(1973)の方法にピリジン0.05mlを加え, 同様の処理を行ったところ, 30分間でほぼ完全に反応が終了し, かつ, ピリジン無添加の場合よりも誘導体生成量も多く, ガスクロマトグラムも満足できるものであった. ただし, ピリジン添加量が0.1ml以上になると不純物ピークが出現し, 分析困難となるので注意を要する. なお生成した誘導体は上路(1973)によると, 室温(15~20℃), 冷蔵庫内ともに3週間も安定であったという.

2. ガスクロマトグラフ条件

上路ら(1973)は, N-TFA誘導体をOV-17, OV-25, PEGA, XE-60およびQF-1+OV-17の5種類のカラム充てん剤を用い, その保持時間を測定し, 農薬の相互分離を検討しているが, 著者はさらにOV-1, DC-200, Reoplex 400, QF-1およびDC-11についても検討を加えた. なお, カラム温度120~140℃, 検出器温度210℃, 注入温度180℃, キャリヤガスN₂100mlとし, 注入量は親化合物として0.8ngである.

5種カーバメート剤の各種カラム充てん剤別のMTMCに対する相対保持時間を第1表に示した. それに



第1図 シリコンOV-17によるN-TFA誘導体のガスクロマトグラム

A: MTMC B: MIPC
C: XMC D: BPMC
E: MPMC F: Carbayl
カラム温度120℃ N₂ 100ml/min

第1表 カーバメート剤N-TFA誘導体の相対保持時間

充てん剤 カラム温度 カーバメート剤(長さ)	2%OV-17 120℃(1.7m)	2%OV-1 120℃(1.7m)	5%DC-200 130℃(1.0m)	2%Reoplex400 120℃(1.7m)	2%QF-1 120℃(1.5m)	5%DC-11 140℃(2.0m)
MTMC	1.00 ^{a)}	1.00 ^{b)}	1.00 ^{c)}	1.00 ^{d)}	1.00 ^{e)}	1.00 ^{f)}
MIPC	1.31	1.45	1.44	1.12	1.33	1.40
XMC	1.58	1.61	1.61	1.54	1.44	1.56
BPMC	1.81	2.08	2.07	1.48	1.65	1.96
MPMC	2.08	1.95	2.00	1.97	1.86	1.73
Carbaryl	10.85	7.07	7.12	—	9.30	—

MTMCの保持時間 a) 1.92分 b) 2.96分 c) 2.16分
d) 1.78分 e) 1.94分 f) 4.72分

よると、OV-17が相互分離の点で最もすぐれていたが、それでもなお供試した6農薬の一部については完全分離が困難であった(第1図)。そこで、OV-17において保持時間の接近していたXMCとBPMCの分離用にはOV-1、DC-200またはDC-11を、BPMCとMPMCの分離用には Reoplex 400を用いるなど必要に応じてカラム充てん剤を組み合わせることにより完全相互分離が可能となった。なお、上路らは農薬保持時間の順位はカラム充てん剤を違えても変動がなかったと報告しているが、本実験に用いたカラム充てん剤では、保持時間の短いMTMCとMIPCを除いて、順位の変動がおこり相互分離の点では好都合であった。

実際にキュウリでの残留分析に用いたガスクロマトグラフ条件は以下のとおりである。

カラム：内径3mm×長さ170cm

充てん剤：2%シリコンOV-17/ガスクロムQ

カラム温度：120℃(Carbarylの場合は150℃)

検出器温度：210℃

注入口温度：180℃

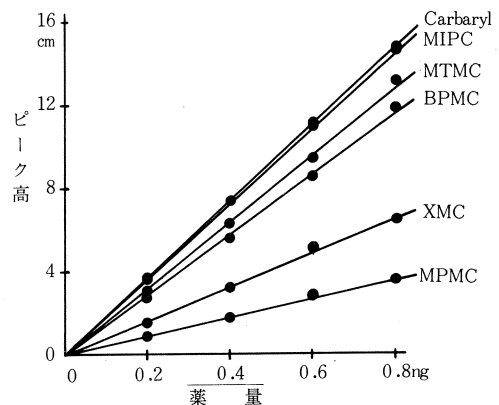
キャリアガス：100ml/min.

チャートスピード：5mm/min. または10mm/min.

エレクトロメーター：10²×8

3. 検量線

農薬の相互分離およびカラム効率の最もすぐれていると思われた2%シリコンOV-17を用い、カーバメート剤の絶対検量線を作成した(第2図)。6種カーバメート剤ともに0.8ngまでは原点を通る直線が得られた。なお、ガスクロマトグラフ条件は前述のとおりである。



第2図 検量線

GCカラム 2%OV-17/Gas-chromQ (1.7m)

注入口温度 190℃

検出器温度 210℃

カラム温度 120℃(Carbarylの場合は150℃)

N₂ 100ml/min

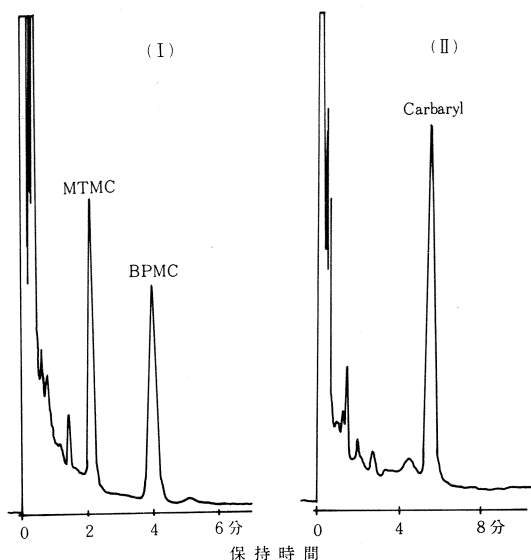
4. カラムクリーンアップ

上路ら(1973)の方法は、対象が玄米や稲わらであったためか、そのままキュウリに適用しても色素類等の妨害物が除去できず、ガスクロマトグラム上に分析妨害ピークが多数出現した。この対策として、カラムクリーンアップ法の改良が最も有効であると考えた。

現在、カーバメート剤のカラムクリーンアップ法として用いられているフロリジルカラム(10%アセトン含有n-ヘキサンで溶出、水飽和塩化メチレンで溶出、n-ヘキサン+塩化メチレン(1+1)で溶出)、ア

第2表 キュウリよりのカーバメート剤の回収率

カーバメート剤	回収率 (%)			平均回収率
MTMC	78.8	85.3	79.3	81.8
MIPC	86.4	85.0		85.7
XMC	85.9	84.7		85.3
BPMC	93.0	100.5	92.3	95.3
MPMC	92.7	97.6		95.2
Carbaryl	91.9	92.8	91.7	92.1



第3図 本分析法によるキュウリ果実の分析例

(I) カラムOV-17 カラム温度 120℃
 (II) カラムOV-17 カラム温度 150℃

ルミナカラム (10~25%アセトン含有 n-ヘキサン) で溶出, n-および活性炭カラム (アセトンで溶出) を検討したが, 分析妨害ピークを取り除けず, キュウリの分析用としては不適当であった。一方, 塩化アンモニウムとリン酸による凝集処理も試みたが不満足であった。

そこで, 前記のカラムクロマトグラフィーの再検討をするため, 種々の展開溶媒を用いて, その溶出力を徐々に高め, カーバメート剤の溶出区分を確認した。その結果, フロリジルカラムを用いて25%エーテル含有 n-ヘキサン 100 ml で抽出液の予備洗浄を行ったのち, エーテル 100 ml で溶出させることによりほぼ満足できるガスクロマトグラムを得た (第3図)。

結果および考察

1. キュウリにおける回収試験

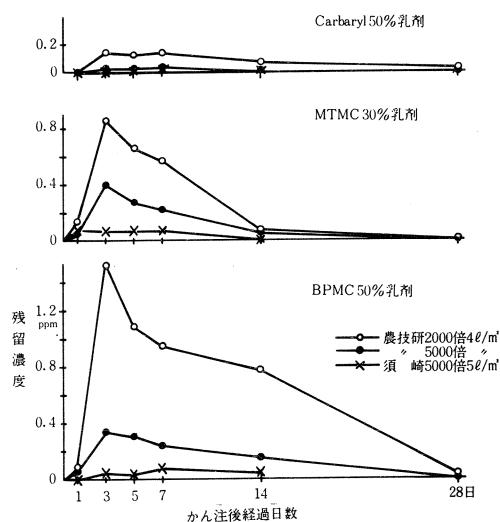
キュウリにおける回収試験の結果を第2表に示した。前述の方法のとおりMTMC, MIPC, XMC, BPMC, MPMCおよび Carbaryl を 5 μ g (0.1ppm) 添加し, 回収率を測定した結果, いずれのカーバメート剤においても, その平均回収率は80%以上であり, 残留分析法

として満足できるものであった。

なお, MTMC, MIPC, BPMCおよび Carbaryl の最小検出量は0.04 ng, 検出限界は0.01ppmであり, XMCおよびMPMCの最小検出量は0.08ng, 検出限界は0.02ppmであった。ただし, N-TFA化反応時の $\frac{1}{2}$ 量分取法の割合を変更することにより, さらに低い検出限界を得ることも可能であろう。

2. キュウリの分析結果

当研究所圃場と須崎地区圃場で, MTMC, BPMCおよび Carbaryl 乳剤2000~5000倍希釈液の4~5 ℓ / m^2 土壌かん注区を設け, かん注後の



第4図 カーバメート剤土壌かん注区のキュウリ果実における残留の経時変化

キュウリ果実での残留を経時的に調査した (第4図)。

いずれのカーバメート剤も残留量の低い区を除いてかん注後3日目に残留のピークを示し、以後漸減した。薬剤間の比較をすると、MTMCおよびBPMCの残留濃度は高かったが、Carbarylは低かった。また、当研究所圃場のキュウリは須崎地区のそれよりも明らかに残留量が多かったが、その原因については不明である。

既存の基準 (Carbaryl 1.0ppm : 登録時の暫定基準) からキュウリ果実の安全性を考察すると、Carbarylは収穫前日にかん注しても残留量は基準を越えないことが判明したが、MTMCおよびBPMCについては、まだ基準が定められていないため不明である。

3. 土壌における回収試験

土壌における回収試験の結果を第3表に示した。M

第3表 土壌よりのカーバメート剤の回収率

カーバメート剤	回収率 (%)		平均回収率
MTMC	92.6	95.6	94.1
BPMC	99.2	100.3	99.8
Carbaryl	101.4	100.6	101.0

TMC, BPMCおよび Carbaryl を20 μ g (0.4ppm) 添加し、回収試験を行ったところ、いずれも回収率90%以上であり、非常に満足できる結果を得た。

なお、最小検出量および検出限界は、キュウリの場合と同じであった。

4. 土壌の分析結果

須崎地区にBPMCおよび Carbaryl 粉剤処理区 (20kg/10a) を設け、それらの土壌残留を調査した (第4表)。Carbarylは処理直後から11日までは急激に減少したが、それ以後は、ほぼ等速度で減少し、その半減期は約10日であった。しかし、BPMCの場合は、サンプリング誤差のためか、ばらつきが大きくて、半減期は不明であるが、残留の程度はほぼ同等と考えられた。

第4表 カーバメート粉剤の土壌残留量の経時変化
単位: ppm

処理後日数	カーバメート剤	BPMC	Carbaryl
直 後		5.25	15.50
11 日		14.93	2.44
20		1.78	0.90
40		0.11	0.28

摘 要

施設栽培キュウリの根を加害する土壌害虫トビムシモドキ類の防除対策として、土壌にかん注したN-メチルカーバメート剤の土壌やキュウリ果実での残留量を調査する必要性が生じ、現在、玄米中の残留分析法として用いられているN-トリフルオロアセチル化 (NTFA化) による方法を、キュウリおよび土壌に適用するために、その一部を改良した。

N-TFA化反応は、ピリジンの0.05ml添加により反応時間が短縮し、誘導体生成量も増加した。また、カラム充てん剤による誘導体の保持時間の違いにより、供試した6種カーバメート剤の完全相互分離が可能となった。なかでも、シリコンOV-17の分離能が高かった。

玄米中の残留分析法をそのまま適用しても分析妨害物が除去できず、分析困難であったが、カラムクリーンアップ法としてフロリジルカラムを用いて25%エーテル含有n-ヘキサンを予備洗浄し、エーテルで溶出したところ満足できる結果を得た。

本法により、土壌にかん注したMTMC, BPMC, および Carbaryl のキュウリ果実での残留を調査したところ、かん注後3日目に残留のピークを示し、その濃度は、MTMCとBPMCが高く、carbarylは低かった。なお、本法によるキュウリおよび土壌からの回収率は80%以上であり、検出限界はMTMC, MIPC, BPMCおよび carbaryl では0.01 ppm, XMCおよびMPMCでは0.02 ppmであった。

文 献

- (1)石井康雄・山下幸夫・河野真菜子(1972). カーバメート系殺虫剤の微量分析に関する研究, NACの残留分析法. 農業生産技術 28, 271.
- (2)Lau, S. C. & R. L. Marxmiller (1970). Residue determination of Landrin insecticide by trifluoroacetylation and electroncapture gas chromatography. J. Agr. Food Chem. 18, 413~415.
- (3)炭田精造・高木正博・宮本純之 (1970). 玄米中のメオパールの残留分析. 防虫科学 35, 72~75.
- (4)高瀬巖・大須賀重喜(1973). ガスクロマトグラフィーによる微量分析法, 第6報 2,4-ジニトロフェニルエーテル誘導体としてのN-メチルカーバメート系殺虫剤の残留分析法. 農業生産技術 30, 22~28.
- (5)上路雅子・金沢純 (1973). カーバメート系殺虫剤の作物残留分析法. 分析化学 22, 16~20.
- (6)Williams I. H. (1971). Carbamate insecticide residues in plant material; Determination by gas chromatography. Residue Rev. 38, 1~18.

Summary

A partial improvement was made on the gas chromatographic method proposed by Ueji and Kanazawa (1973) which involved formation of the corresponding electroncapturing N-trifluoroacetylated derivatives and applied to the determination of N-methyl carbamate residues. Residues in cucumber fruits and soils were measured by the improved method.

Sample extracts were cleaned up by Florisil column. Carbamate were eluted with ethyl ether after extracts were rinsed with 25% ethyl ether in n-hexane and eluants were collected. The reduction of the reaction time and the increase of the reaction product for N-trifluoroacetylation was observed by the addition of pyridine. It is feasible by this method to determine simultaneously the amount of carbamate in the sample, by an appropriate GLC column or combination of columns. Especially, most efficient separation of local peaks was attained when the column with 2% Silicone OV-17 was used.

Recoveries were observed at a range from 81.1 to 95.3% for carbamates, i.e. MTMC (m-tolyl N-methyl carbamate), MIPC (o-isopropylphenyl N-methyl carbamate), XMC (3,5-xylyl N-methyl carbamate), BPMC (o-sec-butylphenyl N-methyl carbamate), MPMC (3,4-xylyl N-methyl carbamate) and carbaryl (1-naphthyl N-methyl carbamate), which were fortified to cucumbers at a level of 0.1ppm. Recovery from soil fortified at a level of 0.4ppm was more than 90% for all compounds. The detectable minimum concentrations were 0.01ppm for MTMC, MIPC, BPMC, carbaryl and 0.02ppm for XMC, MIPC.

The amount of residues in cucumber fruits grown in carbamate-treated soil was measured. The peak residue was observed on the 3rd day after the treatment for MTMC, BPMC and carbaryl. The observed amounts of residues were at a maximum of 0.86, 1.52 and 0.14ppm for MTMC (30% a.i.), BPMC (50% a.i.) and carbaryl (50% a.i.), respectively (1 to 2000 solution, 4 ℓ /m²).