

エトキシキン検査法の簡略化

鈴木 恵子 相澤 博 大谷 倫子 藤田 晃三

要 旨

エトキシキンは、りんご、なしの焼け病防止剤として使用される農薬である。当所では、おもに農薬の系統分析法を用いた収去検査を行っているが、エトキシキンは系統分析法では分析できない。また、公定法では、回収率がかなり低い。

そこで、最新農薬の残留分析法を参考に回収率が72.2～90.7%と良好な簡略法を開発した。

1. 緒 言

エトキシキンは、りんご、なしの焼け病防止剤として用いられている農薬である。食品衛生法により規格基準（以下基準）が定められているが、国内では農薬取締法による登録がされてはならず、無登録農薬である。¹⁾ また、平成14年には原材料に酸化防止剤としてエトキシキンが使用された輸入健康食品が流通して問題になった。

当所では、おもに系統分析法²⁾による残留農薬検査を行っているが、エトキシキンは系統分析法では分析できないうえ、公定法³⁾では検査行程が煩雑で、回収率が低い。

そこで、通常業務に適應できるよう、別法¹⁾を参考に、エトキシキン検査法の簡略化を試みたので、報告する。

2. 方 法

2-1 試 薬

n-ヘキサン（ヘキサン）、無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用試薬

ジブチルヒドロキシトルエン（BHT）、チオ硫酸ナトリウム、炭酸ナトリウム：試薬特級

水：Milli-Q SP TOC（ミリポア社製）で精製

アセトニトリル：残留農薬試験法試薬または高速液体クロマトグラフィー用試薬

ヘキサン（BHT含有）：ヘキサンに50mg/mlとなるようBHTを添加した。

アセトニトリル（BHT含有）：アセトニトリルに50mg/mlとなるようBHTを添加した。

エトキシキン標準品：Riedel-de Haen社製のものをを用いた。

エトキシキン標準原液：エトキシキン標準品を10mg精秤し、アセトニトリル（BHT含有）に溶解し、10mlにメスアップ。そこから2mlとり、アセトニトリル（BHT含有）で10mlにメスアップしたもの。（エトキシキン 20μg/ml） 冷凍保存

エトキシキン標準溶液：アセトニトリル（BHT含有）で0.1～2μg/mlに希釈。用事調製。

2-2 試 料

市販品のりんご、洋なし、日本なしを試験に供した。

2-3 装 置

蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ：Alliance（Waters社製）

2-4 方 法

（1）試験溶液の調製

あらかじめ試料重量をはかり、試料100gにつき5mlの4%チオ尿素溶液を添加した後、均一化した。均一化した試料20gを正確に350ml遠沈管に秤量し、20%炭酸ナトリウム溶液20ml、ヘキサン（BHT含

有) 100ml を加え、ポリトロンで破碎後、3000rpm で15分間遠心分離した。

上清50ml を200ml 分液ろうとに分取し、水50ml で2回洗浄した。上層を200ml 共栓三角フラスコにとり、無水硫酸ナトリウムを加え、30分間放置し、脱水後、濃縮乾固後、アセトニトリル2mlに溶解した。

(2) HPLC測定条件

カラム：TSK-GEL ODS-80TM (東ソー(株)製)
内径4.6mm、長さ250mm

カラム温度：40

移動相：アセトニトリル(BHT含有) - 水(7:3)

流速：1.0ml/min

検出波長：励起波長360nm、蛍光波長435nm

注入量：30μl

(3) 定 量

試験溶液及び標準溶液のピーク面積から、算出した。

3. 結果及び考察

3-1 チオ尿素添加量の検討

別法では、酵素によるエトキシキンの分解を防ぐため、試料と同量の4%チオ尿素溶液を加え、ホモジナイズを行っている。当所では検査成績書を発行してから3ヶ月冷凍保存することがSOPで定められているが、同量のチオ尿素溶液を加えてホモジナイズした検体は液状となり容積も増えるため、保存するのに不都合である。そこで、4%チオ尿素溶液を試料100gあたり5~20mlで添加して、りんごの添加回収試験を行った。添加回収試験は、均一化した試料を正確に秤量した後、エトキシキン標準原液200μlを加え、30分間放置後、別法により行い、その結果を比較した。

試料100gあたり4%チオ尿素溶液5mlの添加で十分な回収率を得ることができた。(表1のとおり)

表1 4%チオ尿素添加量と回収率の比較

添加量(ml / 100g 試料)	回収率(%)
5	107
10	116
20	119

3-2 添加回収試験

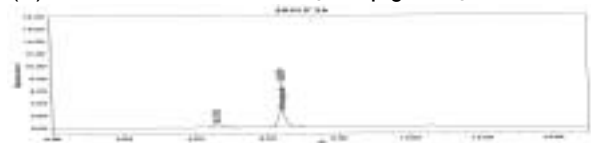
別法および公定法では、抽出法は試料を分液ろうとにとり、20%炭酸ナトリウム溶液とヘキサン(BHC含有)を加え、30分間振とう後、遠心分離して抽出している。しかしながら、抽出に時間がかかるため、ポリトロンで破碎した後、遠心分離して抽出することとした。

添加回収試験は、基準のあるりんご、日本なし、洋なしで行った。あらかじめ均一化した試料を正確に秤量後、標準原液200μlを加え、30分間放置後、3回試験した。(試料濃度にして0.2μg/g、試験溶液濃度にして、1μg/ml相当添加)

エトキシキン標準溶液とりんご試験溶液のHPLCクロマトグラムを図1に示す。定量の支障となるような妨害は認められなかった。日本なし、洋なしについても同様であった。

図1 HPLCクロマトグラム(標準溶液と試験溶液)

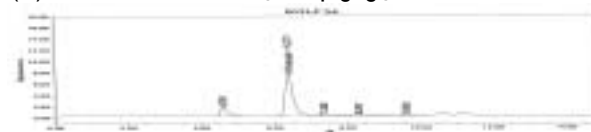
(1)エトキシキン標準溶液(0.5μg/ml)



(2)りんご試験溶液



(3)エトキシキン添加(0.2μg/g)りんご試験溶液



検量線は0.1~2μg/mlで直線性を示した。最も低

い濃度である0.1 µg/mlは、試料濃度にして0.02 µg/gであり、これを検出限界とした。この検査法の検出限界は、公定法の検出限界（0.05ppm）を下回る。

回収率の平均値および変動係数を表2に示す。国際合同食品規格委員会では、食品中の動物性医薬品分析法の条件として、変動係数と添加回収推奨値をしめしているが、それによると、試料濃度にして0.2 µg/gあたりの変動係数は15%未満、許容添加回収率は80～110%である。⁴⁾これを準用すると、洋なしで平均回収率が若干これを下回るが、ほぼ80%近い回収率であるのと、変動係数はいずれも15%を大きく下回るため、良好な結果が得られたと考える。

表2 各検体の回収率及び変動係数

検 体	回収率 (%) *	変動係数 (%)
りんご	85.7 ± 6.1	7.1
日本なし	83.4 ± 5.5	6.6
洋なし	78.6 ± 6.0	7.7

* : 平均回収率 ± 標準偏差 (n=3)

4. 結 語

当所では、系統分析法を適応できる項目を中心に残留農薬検査を行っているが、中には系統分析法では分析不可能な項目もある。そのような項目の検査を実施する場合、同時に系統分析法を実施することがほとんどであるため、分析法はより簡略であることがのぞましい。今回、エトキシキンについては回収率の良好な簡略法を開発する事ができた。

今後は、系統分析法を適応できない農薬の分析法の簡略化を検討し、業務に役立てていきたい。

5. 文 献

- 1) 農薬残留分析法研究班編：最新農薬の残留分析法，261-262，中央法規出版（東京），1995
- 2) 阿部敦子、鈴木恵子、川島清輝 他：平成9年度の札幌市における残留農薬の検出状況について。札幌市衛生研究所年報，25:43-51,1998
- 3) 厚生省生活衛生局長通知：食品、添加物等の規格基準の一部改正について（衛化第74号 平成4年10月27日），1992
- 4) 荒木恵美子：食品分析とGLP，食衛誌，37，267-272，1996

Simplification of Analytical Method of Ethoxyquin

Keiko Suzuki, Hiromu Aizawa, Tomoko Otani and Kozo Fujita

Ethoxyquin is a pesticide to prevent a disease of apples and pears. It is impossible to analyze ethoxyquin by multiresidue method, and recoveries by the official method of analysis is very low.

We studied to improve the determination method on ethoxyquin more simple. The sample was homogenized with thiourea and extracted with hexane containing dibutyl hydroxytoluene. The extract washed with purified water, evaporated to be dried. The residue was dissolved in acetonitrile and analyzed by HPLC with fluorescence detector.

In this method, mean recoveries of ethoxyquin from apples, pears, Japanese pears spiked at the level of 0.2 µg/g (n=3) were 85.7 ± 6.1%, 83.4 ± 5.5% and 78.6 ± 6.0%. Coefficient of variance was 7.1%, 6.6% and 7.7% respectively. The detection limit was 0.02 µg/g.