

キャピラリーガスクロマトグラフィーによる 有機塩素系農薬の分析

望月恵美子 近藤 学

Determination of Chlorinated Pesticides by Capillary Gas Chromatography

Emiko MOCHIZUKI and Manabu KONDO

輸入農産物が目ざましい増加を遂げている今日、農産物輸入先国で収穫後に農産物に使用される農薬や、環境中に残留する農薬の安全性に対する関心が高まっている。農作物への残留および環境汚染が社会問題となった有機塩素系農薬は、1960年代後半より、その使用が厳しく制限され、あるいは禁止された。しかし、いまだに魚介類をはじめ動物性食品などから有機塩素系農薬が検出されている¹⁾。

有機塩素系農薬のガスクロマトグラフによる分析にはこれまで、各種の充填パックドカラムを用いた方法が採用されてきたが、分離能、感度ともに不十分で、また、分析時間も長くなるなどの問題点があった。近年、固定相が内壁に結合された高純度の合成シリカを素材としたキャピラリーカラムが多数市販されるようになった。これらのカラムは、不活性さや強度の点で優れており、かつ、高い分離能や再現性を有する。従来使用されてきたパックドカラムに比較すると、カラムの操作性が格段に向上しているため、農薬等の分析に応用されてきた^{2~5)}。

今回、われわれは、3種類の化学結合型ヒューズドシリカキャピラリーカラムを用いて、26種類の有機塩素系農薬の分析条件を検討し、実試料への適用を試みたので報告する。

実験方法

1. 試薬

有機塩素系農薬標準品：すべて(株)和光純薬工業製を使用した。標準溶液は、標準品約10mgを少量のベンゼン、アセトン等で溶解し、n-ヘキサンで50mlとし、標準

原液とした。標準溶液は、この標準原液を、適宜、n-ヘキサンで希釈、混合して20-600 $\mu\text{g}/\text{m}\ell$ 混合標準溶液を作成し、ガスクロマトグラフにその1 $\mu\ell$ を注入した。

有機溶媒、無水硫酸ナトリウム：(株)和光純薬工業製残留農薬試験用を用いた。

活性炭：Darco Dept., Atlas Powder Co. 製ダルコG-60

アビセル：Merck社製カラムクロマトグラフィー用微結晶セルロースArt.2331

活性炭混合物：ダルコG-60：アビセル(1：9)に混合して用いた。

フロリジル：Floridin Co.製フロリジル60-80meshを130 $^{\circ}\text{C}$ で一夜加熱後放冷して用いた。

2. 装置

ガスクロマトグラフ：(株)島津製作所製GC-14A

(ECD⁶³Ni付)

自動注入装置：(株)島津製作所製AOC-14オートインジェクター

データ処理装置：(株)島津製作所製C-R 6 Aクロマトバック

キャピラリーカラム及びGC分析条件：J&W社製DB-1, DB-5及びDB-17。表1にキャピラリーカラム仕様条件およびガスクロマトグラフ設定条件を示した。

3. 試験方法

厚生省生活衛生局食品化学課編残留農薬分析法Draft⁶⁾の方法に準拠して、溶媒抽出後、フロリジル、活性炭混合物による分離精製を行なった。操作の概略を図1に示した。

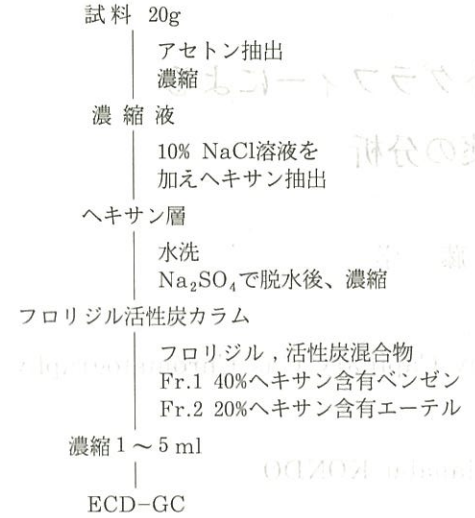


図1 果菜類有機塩素系農薬分析フローチャート

表1 フェーズドシリカキャピラリーカラム
及びGC設定条件

液相	DB-1			DB-5			DB-17					
	100% Methyl silicone			5% Phenyl-95% Methyl silicone			50% Phenyl-50% Methyl silicone					
極性	無			微			中					
メーカー	J&W			J&W			J&W					
内径(mm)	0.25			0.25			0.25					
液相膜厚(μm)	0.25			0.25			0.25					
長さ(m)	30			30			30					
カラム温度												
initial (°C)	60			60			60					
hold time(min)	2			2			2					
rate (°C/min)	30	4	1.5	20	40	4	1.5	40	40	40	30	5
temp (°C)	180	210	230	260	180	210	225	260	206	220	250	275
time(min)	5	0	0	10	5	0	0	10	11	9	0	10
カラム圧(kg/cm ²)	1			1			1					
メークアップガス圧(kg/cm ²)	0.4			0.4			0.4					
検出器温度(°C)	280			280			280					

結果と考察

1. 試料導入法

キャピラリーカラムを使用したGCの試料導入法には、スプリットレス法、スプリット法、ソルベントレス法などがあるが、操作が比較的簡単なスプリットレス注入法を用いた。

2. カラム温度条件

スプリットレス注入法では初期カラム温度を試料溶媒付近から昇温する必要があるため、初期温度を60°Cとし、使用最高温度まで、昇温分析を行なった。昇温待ち時間は2分間と設定した。

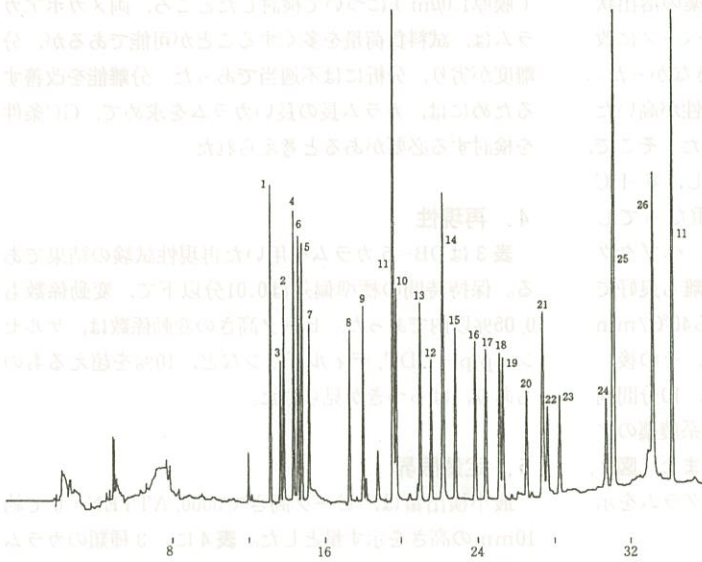
3. カラム

キャピラリーカラムは無極性のDB-1、微極性のDB-5、中極性のDB-17の3種類について検討した。有機塩素系農薬を一度に分析するための最適条件の決定は以下のようにした。昇温速度を、概ね、60~180°Cまでは20~30°C/min、180~260°Cまでは、2~5°C/minまで変化させて、各農薬の溶出状況、分離の様子、保持時間を比較、検討した。

DB-1では、4種類のHCH、HCB、PCNB、TPNが一群となって、まず溶出し、ケルセンとアルドリン、DDEとディルドリン、クロルベンジレートとDDD、pp'-DDTとダイホルタンは分離不十分となって溶出した。そこで、第一段昇温速度を30°C/minとし、180°Cまで昇温し、さらに、小刻みに3段階昇温した。

表2 有機塩素系農薬の相対保持時間

農薬	DB-1	DB-5	DB-17
HCH (α)	0.671	0.676	0.686
HCB	0.701	0.694	0.650
HCH (β)	0.693	0.730	0.812
HCH (γ)	0.727	0.744	0.793
PCNB	0.748	0.755	0.750
HCH (δ)	0.729	0.794	0.902
TPN	0.767	0.805	0.930
Vinchlozoline	0.876	0.886	0.897
Heptachlor	0.913	0.910	0.902
Aldrin	1.000	1.000	1.000
Kelthane(1)	0.991	1.021	1.152
Heptachlor epoxide	1.091	1.113	1.217
Captan	1.062	1.132	1.504
Procymidone	1.123	1.164	1.351
Chlordane (α)	1.155	1.187	1.293
Chlordane (γ)	1.207	1.237	1.376
Nonachlor (γ)	1.235	1.256	1.306
DDE	1.271	1.312	1.457
Dieldrin	1.279	1.317	1.478
Endrin	1.341	1.396	1.578
Chlorbenzilate	1.384	1.436	1.550
DDD	1.397	1.472	1.609
DDT(o,p')	1.428	1.485	1.609
DDT(p,p')	1.553	1.592	1.683
Difolatan	1.572	1.648	1.927
Iprodione	1.675	1.718	1.809
Kelthane(2)	1.726		1.885
RT of Aldrin(min)	19.848	19.433	19.060



1. HCH(α)
2. HCB
3. HCH(β)
4. HCH(γ)
5. PCNB
6. HCH(δ)
7. TPN
8. Vinchlozoline
9. Heptachlor
10. Aldrin
11. Kelthane(1)
12. Heptachlor epoxide
13. Captan
14. Procymidone
15. Chlordane(α)
16. Chlordane(γ)
17. Nonachor(γ)
18. DDE
19. Dieldrin
20. Endrin
21. Chlorbenzilate
22. DDD
23. DDT(o,p')
24. DDT(p,p')
25. Difolatan
26. Iprodione

図2 DB-1による有機塩素系農薬のガスクロマトグラム

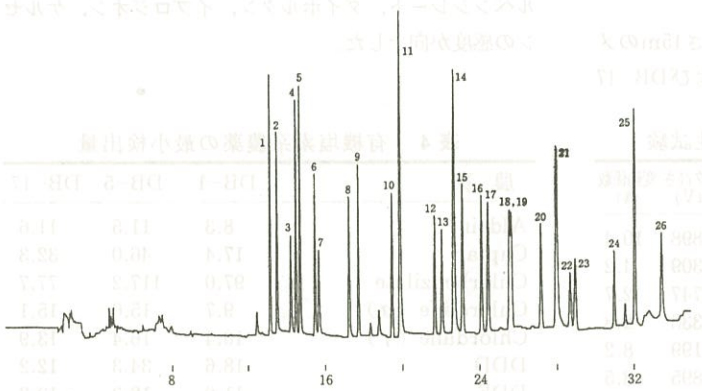


図3 DB-5による有機塩素系農薬のガスクロマトグラム

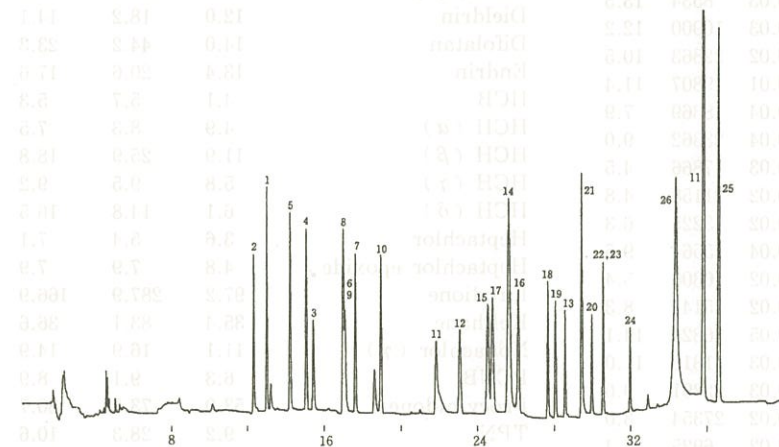


図4 DB-17による有機塩素系農薬のガスクロマトグラム

DB-5は、DB-1のクロマトグラムと農薬の溶出状態が似ているため、DB-1の分離条件ををベースに改良したが、DDEとディルドリンの分離はできなかった。

DB-17は、DB-1、DB-5に比較して、極性が高いため、各農薬の保持時間は長くなる傾向にあった。そこで、最高使用温度も275℃と高く設定した。しかし、 δ -HCHとヘプタクロル、 o,p' -DDTとDDDは重なってしまった。また、ビンクロゾリンと δ -HCH、ヘプタクロル、 α -クロルデンと γ -ノナクロルの分離も良好ではなかった。検討の結果、初期温度60℃から40℃/minで206℃まで昇温し、11分間同温度で保持し、その後、さらに3段階昇温し、275℃まで温度を上げ、10分間同温度で保持することにした。表2に有機塩素系農薬のアルドリンを1とする相対保持時間を示した。また、図2、3、4に各種有機塩素系農薬のガスクロマトグラムを示した。

実試料を分析する場合には、分離能、分析時間、他の夾雑物ピークとの分離、カラムの汚染、ベースラインの安定等を考慮して、DB-5を主に使用し、他のカラムをあわせて定性用に使用することとした。

なお、J&W社製カラム内径0.25mm、長さ15mのメガボアカラム、DB-1（膜厚1.5 μ m）およびDB-17

（膜厚1.0 μ m）について検討したところ、両メガボアカラムは、試料負荷量を多くすることが可能であるが、分離度が劣り、分析には不適當であった。分離能を改善するためには、カラム長の長いカラムを求めて、GC条件を検討する必要があると考えられた。

4. 再現性

表3はDB-5カラムを用いた再現性試験の結果である。保持時間の標準偏差は0.01分以下で、変動係数も0.05%以内であった。ピーク高さの変動係数は、ケルセン、 p,p' -DDT、ディルドリンなど、10%を超えるものもあり、ばらつきが見られた。

5. 定量限界

最小検出量は、ピーク高さで5000、ATTEN=6で約10mmの高さを示す量とした。表4に、3種類のカラムの最小検出量を示した。DB-1で4~97pg、DB-5で6~288pg、DB-17で5~167pgであった。従来のパックドカラムでは、最小検出量の高いプロシミドン、クロルベンジレート、ダイホルタン、イプロジオン、ケルセンの感度が向上した。

表3 DB-5カラムによる再現性試験

農薬	注入量 (pg)	保持時間 (min)	変動係数 (%)	ピーク高さ (μ V)	変動係数 (%)
Aldrin	41.2	19.433	0.03	17898	10.4
Captan	85.6	22.005	0.02	9309	4.2
Chlorbinzilate	416.0	27.902	0.02	17747	2.7
Chlordane (α)	40.0	23.065	0.02	13338	2.8
Chlordane (γ)	40.0	24.047	0.03	12199	8.2
DDD	40.4	28.602	0.01	5895	8.5
DDE	40.8	25.503	0.04	11178	8.5
DDT(o,p')	41.2	28.863	0.03	6934	10.3
DDT(p,p')	40.0	30.945	0.03	8534	13.5
Dieldrin	39.6	25.597	0.03	10900	12.2
Difolatan	202.0	32.017	0.02	22863	10.5
Endrin	40.4	27.123	0.01	9807	11.4
HCB	20.8	13.492	0.04	18369	7.9
HCH (α)	38.8	13.128	0.04	23362	9.0
HCH (β)	40.8	14.187	0.03	7866	4.5
HCH (γ)	40.0	14.458	0.02	21158	4.8
HCH (δ)	39.2	15.430	0.02	13225	6.3
Heptachlor	16.8	17.693	0.04	15564	9.5
Heptachlor epoxide	16.3	21.625	0.02	10306	5.4
Iprodione	872.0	33.393	0.02	15144	8.3
Kelthane	612.0	19.835	0.05	36824	14.1
Nonachlor (γ)	40.0	24.400	0.03	11819	11.0
PCNB	40.8	14.675	0.03	22391	9.0
Procymidone	404.0	22.620	0.02	27354	3.0
TPN	39.2	15.650	0.02	6925	7.4
Vinchlozoline	40.0	17.212	0.05	13041	5.7

表4 有機塩素系農薬の最小検出量

農薬	DB-1	DB-5	DB-17
Aldrin	8.3	11.5	11.6
Captan	17.4	46.0	32.3
Chlorbenzilate	97.0	117.2	77.7
Chlordane (α)	9.7	15.0	15.1
Chlordane (γ)	10.4	16.4	13.9
DDD	18.6	34.3	12.2
DDE	11.8	18.3	13.3
DDT(o,p')	18.1	29.7	12.5
DDT(p,p')	19.3	23.4	20.7
Dieldrin	12.0	18.2	14.1
Difolatan	14.0	44.2	23.3
Endrin	13.4	20.6	17.6
HCB	4.1	5.7	5.3
HCH (α)	4.9	8.3	7.5
HCH (β)	11.9	25.9	18.8
HCH (γ)	5.8	9.5	9.2
HCH (δ)	6.1	14.8	16.5
Heptachlor	3.6	5.4	7.1
Heptachlor epoxide	4.8	7.9	7.9
Iprodione	97.2	287.9	166.9
Kelthane	35.4	83.1	36.6
Nonachlor (γ)	11.1	16.9	14.9
PCNB	6.3	9.1	8.9
Procymidone	53.0	73.8	80.7
TPN	9.2	28.3	10.6
Vinchlozoline	9.9	15.3	9.6

単位：pg

日常食の汚染物質の一日摂取量の比較 (1981-1990)

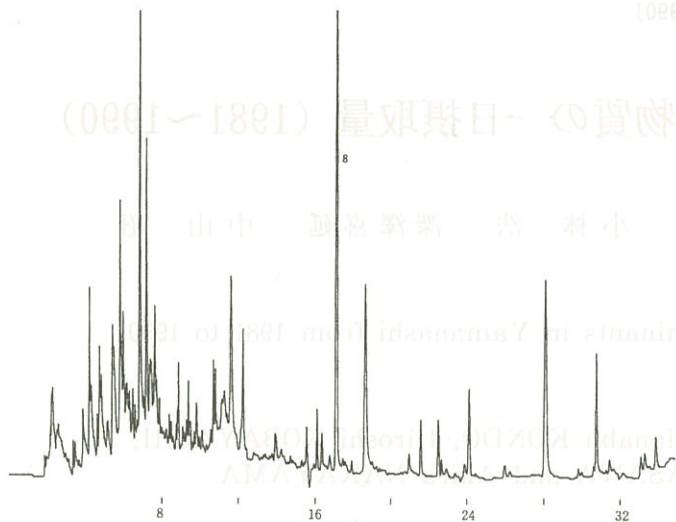


図5 DB-5 による桃のガスクロマトグラム

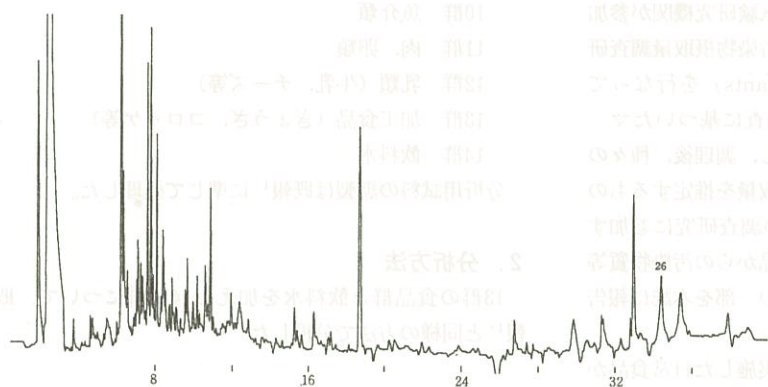


図6 DB-17 によるぶどうのガスクロマトグラム

6. 実試料への適用

試料調製法に従い、前記分析条件で、桃とぶどうの分析を行い、そのクロマトグラムを図5、6に示した。夾雑物ピークの多くは、標準ピークの前に溶出し、比較的、妨害ピークの少ないクロマトグラムが得られた。しかし、脂肪除去が不完全な試料の分析を繰り返すと、ガラスインサート等の汚れにより、分析感度が低下する傾向がみられた。試料中の夾雑物は可能な限り、除去する必要があると考えられた。また、スプリットレス注入法は、カラム初期温度を低温で保持するため、分析時間が長くなるのが欠点であった。今後は、再現性、感度、分析の迅速性等、総合的な観点から、他の導入法も比較検討する必要があると考えられる。

ま と め

極性の異なる3種類のヒューズドシリカキャピラリーカラムを用いて、有機塩素系農薬26種の分析条件を検討し、実試料への適用を試みた。一部、不分離ピークがみられ、26種の農薬を完全に分離することはできなかった。しかし、従来の充填バックドカラムに比べ、ピークの分離がよく、感度、再現性の点でも良好な結果が得られた。

文 献

- 1) 望月恵美子ら：山梨衛公研年報, 34, 16~21 (1990)
- 2) 荒川善行ら：岩手衛研報, 32, 35~38 (1989)
- 3) 熊野真佐代ら：長崎衛公研報, 31, 65~69 (1988)
- 4) 吉沢朋子ら：栃木衛研報, 19, 69~70 (1989)
- 5) 小林規矩夫ら：山梨衛公研年報, 33, 54~58 (1989)
- 6) 厚生省生活衛生局食品化学課編：残留農薬分析法, Draft 4~7 (1985)