

農薬製剤中におけるダイオキシン類の分析法の確立（2）

池長 宙^{*1}、齋藤玲奈^{*1}、横山央子^{*2}

Ozora IKENAGA, Rena SAITOU, Yoko YOKOYAMA

（平成 19 年度実績）

要 約

農薬補助成分中のダイオキシン類分析法について検討した。昨年度の成果を踏まえ、内標準物質を添加した試験を実施し、補助成分中のダイオキシン類の分析法を検討した。

その結果、6 種類の補助成分に対して、硫酸シリカゲルカラムクロマトグラフィなど 5 種類の前処理操作を施すことにより十分な精製効果がみられた。また、全試料において JIS K0311 で求められている回収率を達成し、分析法を確立できた。なお、供試した 6 種類の補助成分のダイオキシン類の定量値はすべて定量限界未満であった。

はじめに

第 1 期中期計画において、農薬原体を用いた農薬中のダイオキシン類の分析法を検討したところであるが、農薬製剤を構成する原体以外の成分である農薬補助成分については、分析法の検討を実施していなかった。

そこで、昨年度に引き続き農薬補助成分中のダイオキシン類の分析法を検討することとした。検討に使用した補助成分は、昨年度入手した 6 種類（ベンゼン環に塩素が結合している構造を持つ化学物質又は当該化学物質を含む混合物で、防黴、安定化などの目的で使用されている）である。

調査研究方法

1. 概要

ポリ塩素化ジベンゾ-p-ジオキシン(以下、「PCDDs」という。)、ポリ塩素化ジベンゾフラン(以下、「PCDFs」という。)、コプラナーポリ塩素化ビフェニル(以下、「Co-PCBs」という。)の回収率算出のため、補助成分約 140mg に、Clean up spike(測定対象のダイオキシン類の ¹³C 体。以下「CS」という)を添加。その後、精製して夾雑物を除去し、アルミナカラムクロマトグラフィを用いて、PCDDs 及び PCDFs と、Co-PCBs とに分画し、定

*1（独）農林水産消費安全技術センター 農薬検査部 検査技術研究課

*2（独）農林水産消費安全技術センター 農薬検査部 化学課

量のため Syringe spike(測定対象以外のダイオキシン類の ^{13}C 体。以下「SS」という。)を添加。最後に高分解能ガスクロマトグラフ質量分析装置(GC/HRMS)にて測定を行った。

補助成分によって、夾雑物の種類が異なるため、昨年度に確認された前処理法を参考に、表1に示すとおり精製を行った。

なお、補助成分 E に関しては、昨年度の結果では硫酸シリカゲルカラムクロマトグラフィで精製可能としていたが、除去効果が不十分な場合があったため、ロング硫酸シリカゲルカラムクロマトグラフィを選択した。

2. 試験法の詳細

2. 1 精製方法

2. 1. 1 硫酸シリカゲルカラムクロマトグラフィ

カラムクロマトグラフ管の底部に石英ガラスウールを詰め、シリカゲル 1g、硫酸(44mass%)シリカゲル 3g、シリカゲル 1g を順次充てんし、硫酸ナトリウムを約 10mm の厚さになるように載せ、ヘキサン 50mL を流下させた。CS を添加した試料をジクロロメタンで溶解し、これをカラムに静かに注ぎ入れ、ヘキサン約 1mL で 2 回洗い込んだ。ヘキサン 100mL を毎秒一滴程度の流量で流下させ、得られた溶出液を数 mL まで濃縮し、次の操作の試料液とした。

2. 1. 2 ロング硫酸シリカゲルカラムクロマトグラフィ

カラムクロマトグラフ管の底部に石英ガラスウールを詰め、シリカゲル 1g、硫酸(22mass%)シリカゲル 6g、シリカゲル 1g を順次充てんし、硫酸ナトリウムを約 10mm の厚さになるように載せ、ヘキサン 50mL を流下させた。CS を添加した試料をジクロロメタンで溶解し、これをカラムに静かに注ぎ入れ、ヘキサン約 1mL で 2 回洗い込んだ。ヘキサン 100mL を毎秒一滴程度の流量で流下させ、得られた溶出液を数 mL まで濃縮し、次の操作の試料液とした。

2. 1. 3 多層シリカゲルカラムクロマトグラフィ

カラムクロマトグラフ管の底部に石英ガラスウールを詰め、シリカゲル 1g、水酸化カリウム(2mass%)シリカゲル 3g、シリカゲル 1g、硫酸(44mass%)シリカゲル 4.5g、硫酸(22mass%)シリカゲル 6g、シリカゲル 1g、硝酸銀(10mass%)シリカゲル 3g、シリカゲル 1g を順次充てんし、硫酸ナトリウムを約 10mm の厚さになるように載せ、ヘキサン 50mL を流下させた。CS を添加した試料をジクロロメタンで溶解し、これをカラムに静かに注ぎ入れ、ヘキサン約 1mL で 2 回洗い込んだ。ヘキサン 100mL を毎秒一滴程度の流量で流下させ、得られた溶出液を数 mL まで濃縮し、次の操作の試料液とした。

2. 1. 4 トルエン共沸

CS を添加した試料に、トルエン 20mL を加えて数 mL まで濃縮する操作を 4 回繰り返した。その後、ヘキサン 20mL を加えて数 mL まで濃縮する操作を 3 回繰り返す、得られた溶液を次の操作の試料液とした。

2. 1. 5 ソックスレー抽出

試料をソックスレー用円筒型ろ紙にいれ、トルエン 500mL で約 18 時間、ソックスレー抽出を行った。得られたトルエン溶液を数 mL まで濃縮し、これを次の操作の試料液とした。

2. 2 分画方法

カラムクロマトグラフ管の底部に石英ガラスウールを詰め、硫酸ナトリウムを約 10mm の厚さになるように加え、続いてアルミナ 10g を充てんし、その上に硫酸ナトリウムを約 10mm の厚さになるように載せ、ヘキサン 50mL を流下させた。精製した試料液を静かに移し入れ、ヘキサン約 1mL で 2 回洗い込み、ヘキサン 40mL を毎秒一滴程度で流して夾雑物を溶出させた。次に、ジクロロメタン/ヘキサン (5:95) 150mL を毎秒一滴程度で流出させ、Co-PCBs を含む第 1 画分を得た。更に、ジクロロメタン/ヘキサン (50:50) 100mL を毎秒一滴程度で流出させ PCDDs 及び PCDFs を含む第 2 画分を得た。第 1 画分及び第 2 画分をそれぞれ数 mL まで濃縮し、次の操作の試料液とした。

2. 3 濃縮方法

調整した試料液をクデルナダニッシュ濃縮管に移し、ヘキサン約 1 mL ずつで 2 回洗い込んだ。窒素気流によって溶媒を揮散除去し約 40 μ L とした後、SS 及びノナン約 200 μ L を加え、再度窒素気流で 40 μ L にした。分画の際、第 1 画分であったものは Co-PCBs の測定試料、第 2 画分であったものは PCDDs 及び PCDFs の測定試料とした。

2. 4 測定方法

ガスクロマトグラフ : HP6890	使用カラム : DB-5MS
カラム温度 : 100 °C (1min) \rightarrow (20 °C/min) \rightarrow 200 °C \rightarrow (2 °C/min) \rightarrow 280 °C (12min) \rightarrow (10 °C/min) \rightarrow 300 °C (12min)	
注入口温度 : 300 °C	試料導入法 : スプリットレス方式 (90s)
試料注入量 : 1 μ L	キャリアガス : He 1mL/min
インタフェース温度 : 300 °C	質量分析計 : Auto Spec-Ultima
分解能 : 10000 以上	イオン化法 : 電子衝撃イオン化法
電子加速電圧 : 30 ~ 40V	イオン化電流 : 500mA
イオン源温度 : 280 °C	イオン加速電圧 : 最大 8000V

結果及び考察

A ~ F の全試料において、5 種類の精製方法による前処理を施す (表 1 参照) ことにより十分な精製効果が認められた。また、全試料において、JIS K0311 で求められている回

収率（CSの回収率）50～120%を達成し、分析法として適正であることが確認できた（表2、表3参照）。以上により、農薬補助成分中のダイオキシン類の分析法が確立できた。なお、全てのダイオキシン類は定量限界未満であり、基準値を下回った。

表1 精製方法

補助成分	外観	精製方法
A	粉末	ロング硫酸シリカゲルカラムクロマトグラフィ
B	液体	硫酸シリカゲルカラムクロマトグラフィ
C	粉末	多層シリカゲルカラムクロマトグラフィ
D	液体	トルエン共沸
E	粉末	ロング硫酸シリカゲルカラムクロマトグラフィ
F	粉末	ソックスレー抽出後に多層シリカゲルカラムクロマトグラフィ

表2 PCDDs及びPCDFsのCS回収率(単位：%)

補助成分		A	B	C	D	E	F
PCDDs	2378-TeCDD	97	105	100	94	110	101
	12378-PeCDD	97	104	97	100	118	95
	123478-HxCDD	88	87	86	96	88	86
	123678-HxCDD	85	84	83	95	94	93
	123789-HxCDD	100	97	101	109	118	107
	1234678-HpCDD	92	90	88	99	95	93
	OCDD	100	99	82	85	87	92
PCDFs	2378-TeCDF	101	112	111	100	112	103
	12378-PeCDF	95	97	96	98	110	97
	23478-PeCDF	103	106	108	107	111	98
	123478-HxCDF	85	87	83	73	57	88
	123678-HxCDF	86	85	82	81	71	89
	234678-HxCDF	88	91	90	99	102	91
	123789-HxCDF	93	98	94	102	108	100
	1234678-HpCDF	88	87	97	98	89	66
	1234789-HpCDF	92	92	85	96	88	87
	OCDF	95	87	78	78	81	84

表3 Co-PCBsのCS回収率(単位：%)

補助成分		A	B	C	D	E	F
Co-PCBs	3,4,4',5'-TeCB(#81)	104	100	99	90	102	107
	3,3',4,4'-TeCB(#77)	103	95	106	89	96	102
	3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	91	92	93	80	84	92
	3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	77	73	74	72	70	74
	2,3,4,4',5'-PeCB(#123)	75	69	70	69	81	82
	2,3',4,4',5'-PeCB(#118)	68	70	70	68	69	78
	2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	79	80	86	77	79	87
	2,3,4,4',5'-PeCB(#114)	84	85	92	74	81	82
	2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	70	67	75	63	67	69
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)	69	69	68	65	68	69
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	71	69	78	68	70	71
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	53	57	55	51	54	57