

農薬残留分析におけるカートリッジカラムの利用

財団法人日本食品分析センター **やぶ 藪** **さき 崎** **たかし 隆**

農薬の残留分析法については環境省が農薬登録保留基準に係る作物分析法（「今日の農業」編集室，1998）または水質分析法（「今日の農業」編集室，1998）を，厚生労働省が農薬残留基準に係る作物分析法（「今日の農業」編集室，1998）を告示している。また，環境省はゴルフ場排水に係る水質分析法（「今日の農業」編集室，1998）および公共用水域などの水質分析法（「今日の農業」編集室，1998）を局長名で通知している。その他にも農薬の作物および水質分析法は幾冊かの成書（後藤・加藤，1980；1987；環境庁水質保全局，2000；農薬残留分析法研究班，1995；上路，2001）として出版されている。

近年の技術革新により分析機器は高感度化，高分離能化が進み，定量値の信頼性が向上している。また精製操作も進歩しており，その代表例がカートリッジカラムの利用である（池谷ら，1987；飯島ら，1997a；1997b；佐藤ら，1999）。ここではカートリッジカラムの農薬残留分析への適用例を中心に，使用上のノウハウなども含めて述べる。

I 概 要

1 カートリッジカラムとは

カートリッジカラムまたはミニカラムは，直径1 cm×長さ2 cm程度のポリエチレン製カートリッジまたは容量5～10 ml程度のポリエチレン製注射筒に種々の充てん剤を充てんしたものであり，ウォーターズやバリアン，スペルコなどから市販されている（図-1）。一般的には充てん量が0.25～1 g程度のもので多用されておりミニカラムと呼ばれることが多いが，充てん量10 gという「ミニ」とは呼べないような製品も市販されているので，ここではカートリッジカラムと称することとする。なお，環境ホルモン分析用として，樹脂製の素材から溶出するバックグラウンド汚染を排除するため，ガラス製注射筒に充てん剤を充てんした製品も市販されている。

2 充てん剤の種類

カートリッジカラムには用途および分析対象物質に応

じた種々の充てん剤が使用されている。それらを分離機構や構造などにより分類し，表-1に示した。

充てん剤として最も数が多いのが，シリカゲル粒子の表面のシラノール基に種々の官能基を化学結合させた充てん剤である。メーカーにより官能基が同一であってもシラノール基との結合状態や結合割合等が異なっているほか，製造ロットごとに溶出状況が変化することがある（松本ら，1998）。

3 カートリッジカラムのメリット・デメリット

従来のオープンカラムと比較してカートリッジカラムには以下に記載したようなメリット・デメリットが存在する。

(1) メリット：①展開溶媒の使用量が少量で済む。②若干のロットむらはあるが，製品の品質がほぼ一定である。③充てん剤の種類が多く分析対象物質に応じた選択が可能。④1～数個ごとにパッケージに密封されているので，汚染，吸湿などによる変質の可能性が小さい。⑤分析の自動化に対応可能。

(2) デメリット：①充てん剤量が少なく，大量の試料，あるいは夾雑物の多い試料では過負荷により精製効果や回収率が低下する場合がある。②順相吸着型の充てん剤を含水させ，吸着力を調整することが困難。③充てん剤の種類が多く，使いこなすには知識と経験が必要。

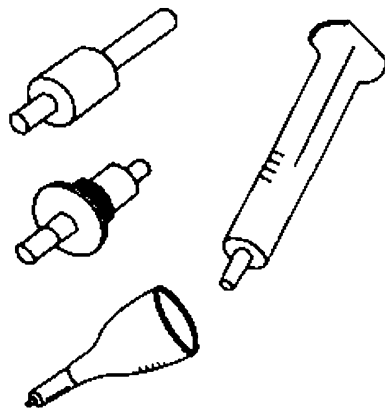


図-1

Purification technique using cartridge column on pesticide residue analysis. By Takashi YABUSAKI

(キーワード：カートリッジカラム，農薬分析，固相抽出)

表-1 カートリッジカラムで使用される充てん剤の種類

分離機構	略称	構造	母体
逆相分配	C 18 (オクタデシル)	-Si-C ₁₈ H ₃₇	シリカゲル
	C 8 (オクチル)	-Si-C ₈ H ₁₇	
	C 2 (エチル)	-Si-C ₂ H ₅	
	C 1 (メチル)	-Si-CH ₃	
	PH (フェニル)	-Si-C ₆ H ₅	
	CH (シクロヘキシル)	-Si-C ₆ H ₁₁	
	CN (シアノプロピル)	-Si-C ₃ H ₆ CN	
	NH 2 (アミノプロピル)	-Si-C ₃ H ₆ NH ₂	
順相分配	CN (シアノプロピル)	-Si-C ₃ H ₆ CN	シリカゲル
	NH 2 (アミノプロピル)	-Si-C ₃ H ₆ NH ₂	
	2 OH/Diol (ジオール)	-Si-C ₃ H ₆ -OCH ₂ CH(OH) -CH ₂ (OH)	
	PSA (n-プロピルエチレンジアミン)	-Si-C ₃ H ₆ NHC ₂ H ₄ NH ₂	
逆相吸着	PS/SDVB (ポリスチレン)		スチレンジビニルベンゼン共重合体
順相吸着	Si (シリカ)	SiO ₂	シリカゲル
	F1 (フロリジル)	MgO ₃ Si	ケイ酸マグネシウム
	Al-A (酸性アルミナ)	Al ₂ O ₃	アルミナ
	Al-B (塩基性アルミナ)	Al ₂ O ₃	アルミナ
	Al-N (中性アルミナ)	Al ₂ O ₃	アルミナ
イオン交換	CBA (プロピルカルボン酸)	-Si-C ₃ H ₆ COOH	シリカゲル
	PRS (プロピルスルホン酸)	-Si-C ₃ H ₆ -SO ₃ ⁻ H ⁺	
	SCX (ベンゼンスルホン酸)	-Si-C ₆ H ₄ -SO ₃ ⁻ H ⁺	
	NH 2 (アミノプロピル)	-Si-C ₃ H ₆ NH ₂	
	PSA (n-プロピルエチレンジアミン)	-Si-C ₃ H ₆ NHC ₂ H ₄ NH ₂	
	DEA (ジエチルアミノプロピル)	-Si-C ₃ H ₆ NH(C ₂ H ₅) ₂	
	SAX (トリメチルアミノプロピル)	-Si-C ₃ H ₆ N ⁺ (CH ₃) ₃ Cl ⁻	
特殊	GCB	C	グラファイトカーボン
	AC	C	活性炭
	Dry	Na ₂ SO ₄	無水硫酸ナトリウム

II カートリッジカラムの利用法

1 水系試料からの抽出法としてのカートリッジカラムの利用

水系試料から農薬を抽出するには、試料に水とヘキサンやジクロロメタンなどの有機溶媒を分液漏斗で振とう混合し、脂溶性の高い農薬を有機溶媒に移行させる「液々分配」という手法がある。この方法は操作が複雑で一度に分析できる試料数が制限されるという欠点がある。この操作の代替として用いられたのがシリカゲルにオクタデシルシラン (ODS) を化学結合させた C 18 カートリッジカラムであり、その歴史は約 20 年前にさかのぼる。当初は充てん剤の質が良くなかったことや、保持や分離の機構の解明が不十分であったことなどから、分析対象物質も限られ、低濃度域の分析では回収率が低下することがあった。その後、充てん剤の質が向上し、

またほぼ同様の機能を有するポリスチレン系ゲルの開発により、分析対象の幅が広がり、低濃度レベルでの回収率も向上している。このカートリッジカラムを用いた水試料からの抽出操作は「固相抽出」と呼ばれている。現在では、環境省告示の水質分析法の大部分で採用されている。

2 精製操作としてのカートリッジカラムの利用

農薬を測定するにはあらかじめ抽出液中に含まれる夾雑物をできるだけ除去しておくことが望ましい。この精製操作で最も使用される手法が「カラムクロマトグラフィー」である。以前はシリカゲルやフロリジルといった吸着剤を 5~10 g、内径 1~2 cm のガラス製クロマト管に充てんして使用する方法が一般的であったが、近年はカートリッジカラムが主流になっている。ここ数年間に環境省が告示した分析法ではほぼ 100% がカートリッジカラムを使用しており、それらを表-2 に示した。

デメリットに記載したように抽出夾雑物が多い試料の分析では、充てんカラムを使用した操作では1回の操作で十分な精製効果が得られる場合でも、カートリッジカラムでは2種以上のカートリッジカラムを併用しなければならない例も多い。色素等によりカートリッジカラムが過負荷となり精製効果が低下してしまう場合、最も簡単な操作はGCBカートリッジカラムの追加である。試料をアセトン溶液とし、GCBカートリッジカラムを通過させることで、夾雑物を除去できる。

複数のカートリッジカラムを組み合わせる場合、カラム同士をアダプタを用いて連結使用することが可能である。カートリッジカラムAからの溶出液をカートリッジカラムBに流下させても分析対象物質が溶出しないような場合、以下のような手順で連続的に精製ができる。

① カートリッジカラムAに試料溶液を流下させ、分析対象物質を保持させる（場合によっては洗浄も行う）。

② カートリッジカラムAの下にカートリッジカラムBを連結し、カートリッジカラムAの溶出液を流下させる（分析対象物質はカートリッジカラムAからカートリッジカラムBに移動する）。

③ カートリッジカラムAを取り外し、カートリッジカラムBに溶出液を流下させる。

3 カートリッジカラムの特殊な使用法

カートリッジカラムを濃縮操作の代替として用いた分析法に、ジアフエンチウロンの分析法（「今日の農業」編集室，1998）がある。ジアフエンチウロンは水が混在する溶液を濃縮すると分解により回収率が低下する。このため、アセトニトリルの抽出液を水で希釈し、CHカートリッジカラムを流下させカラムに保持させた後、アセトニトリルで溶出を行う。この溶出液には水がほとんど入っていないため、濃縮が可能となる。当然、この操作は分析対象物質に分解性がない場合でも適用が可能で、減圧濃縮を行わないため分析時間を短縮することができる。

4 多孔性ケイソウ土カラム

前述のカートリッジカラムとは使用法などが若干異なるが、同じようにポリエチレン製注射筒に多孔性ケイソウ土を充てんした多孔性ケイソウ土カラムがあり、以下に記載した3通りの使用法がある。

(1) 少量の水溶液からの抽出

約20 ml（使用するカラムの負荷容量によって異なる）の水溶液を多孔性ケイソウ土カラムに流し込み、約10分間放置し、水溶液を多孔性ケイソウ土に十分にし

み込ませる。このとき、カラムの下端に水溶液がしみ込んでいない層が1 cm程度残るようにしておく。カラムの上部から非水和性の有機溶媒を流下させ、多孔性ケイソウ土カラムの表面に付着している水溶液と有機溶媒の間で液々抽出を行い、分析対象物質を溶出させる。この操作は原理的には液々分配と同様で、供試する水溶液に塩化ナトリウムを加えて塩析効果で溶出率を向上させたり、水溶液のpHを調整し、酸性物質又は塩基性物質の解離を抑えることで溶出率を向上させる方法もある。また、脂質の多い水溶液を供した場合、回収率が低下する可能性があるが、この場合は水溶液にアセトニトリルを若干量添加することで回収率が向上する（飯島ら，1997a）。

(2) 脂質成分除去のための操作

液々分配の精製操作として脂質成分の除去に用いられるヘキサン/アセトニトリル分配も、この多孔性ケイソウ土カラムを用いて行うことができる（中村ら，1996；斉藤ら，1993）。試料をカラムの負荷容量の50～70%量のヘキサンに溶解して多孔性ケイソウ土カラムに流し込み10分間放置した後、アセトニトリルを流下させ、分析対象物質を溶出する。

(3) 誘導体化のための操作

ジチオカルバマート系殺菌剤のHPLCによる分析では、抽出時にエチレンビスジチオカルバミン酸(EBDC)またはジメチルジチオカルバミン酸(DMDC)のナトリウム塩を生成した後、ヨウ化メチル含有クロロホルム/ヘキサン混液と振とうすることでメチル化と液々分配の操作を同時に行っているが、この操作も多孔性ケイソウ土カラムを用いて行うことができる。EBDC又はDMDCのナトリウム塩を含む水溶液を多孔性ケイソウ土カラムに保持させた後、ヨウ化メチル含有クロロホルム/ヘキサン混液を流下させるとカラム内でのメチル化とメチル化物の溶出が同時に行われる（東阪ら，1993）。液々分配の場合はエマルジョンを形成しやすいので多孔性ケイソウ土カラムの利用は非常に有効である。

III カートリッジカラムの新しい技術

1 積層カートリッジカラム

陽イオン交換と陰イオン交換、NH₂とGCBの充てん剤を積層したものなどが市販されている。これらはそれぞれの充てん剤が積層されているだけであるので、おのおの単独のカートリッジカラムを連結して使用してもほぼ同等の結果が得られる（柴田ら，1997）。環境省告示のクレトジム分析法にNH₂とGCBの積層カラムの

表-2 環境省告示作物残留試験法に採用されているカートリッジカラム

農薬名	多孔性 ケイソウ土	C 18	NH 2	AI-N	SCX	GCB	その他
DBEDC							DEA
アザフェニジン	○			○			
アゾキシストロビン	○	○				○	
アニロホス	○						
イミダクロプリド	○						
インダノファン	○					○	
インドキサカルブ MP	○	○					
エトキサゾール	○	○					
エトキシスルフロ	○			○			
エマメクチン安息香酸塩		○	○				PRS
オキサジクロメホン		○					
オキシポコナゾールフマル酸塩	○	○	○				
カズサホス		○					
クロマフェノジド		○		○		○	PS
シアゾファミド	○						
ジクロシメット		○	○				AI-B
ジノカップ		○	○				
スピノサド							CH
セトキシジム		○					
チアクロプリド	○		○	○			
チアメトキサム	○			○	○		
チフェンスルフロメチル				○			
テトラコナゾール		○					
テブラロキシジジム		○	○				
トリネキサバックエチル		○					SAX
トリフロキシストロビン			○				
ハロスルフロメチル		○	○			○	AI-A
ピフェナゼート		○				○	
ピラフルフェンエチル	○	○	○		○		
ピリメタニル		○					
ファミキサドン	○	○		○			
フェノキサニル	○						
フェンヘキサミド	○			○			
フルミオキサジン		○	○				
ブタフェナシル	○	○		○			
プロヘキサジオンカルシウム塩		○					
ベンゾビシクロン	○						SAX, PS
ホスチアゼート	○					○	
メトキシフェノジド	○	○				○	PSA

シリカゲルおよびフロリジルカートリッジカラムの使用については省略した。

適用例がある。

2 多機能充てん剤

ポリマーをベースとし、その表面に逆相分配とイオン交換の作用を有する官能基を化学結合させることで、イオン性物質への適用を広めた充てん剤が最近登場してきている(佐々木・YOUNG, 2001)。従来、液々分配において水相のpHを変化させて有機溶媒との分配を繰り返していた操作をこのカートリッジカラムで行えるようになった。

3 ディスク状固相

メンブレンフィルター状のテフロン繊維上に充てん剤の微小粒子を固定させたディスク状の固相である。充てん剤にはC18, PS, イオン交換, GBCなど通常のカートリッジカラムとほぼ同様のものがある。ポリエチレン製カートリッジに固定したものと、直径47mmまたは90mmのメンブレンフィルター状のものが市販されている。メンブレンフィルター状の製品では一回に数lの水試料からの抽出を効率よく行うことができる。水溶性が高いため、水中からの抽出が難しかったアセフェートの分析への適用例(栗山・佐藤, 1987)があるほか、有機塩素系農薬等の一斉分析法として米国EPAが承認した方法もある(EPA Method 525.2)。また、メンブレンフィルター状の製品を作物残留分析の多成分同時分析法へ適用した報告もある(佐藤ら, 1999)。

4 自動分析装置

近年、製薬関係の分野などで用いられているコンビナトリアルケミストリー用として標準96ウェルプレート仕様の固相が市販されている。これとは形状が異なるが、専用の小型カートリッジを用いて水系試料中の農薬残留分析を自動化した報告もある(石坂ら, 1999; 佐々野ら, 1999)。しかし、夾雑物の組成が複雑で、少量多種分析となる農薬の作物残留分析への適用は現状ではかなり難しいと考える。

おわりに

農薬分析はまだ分析者個人のテクニックに頼る部分が大きいですが、それを打ち破りより効率的に分析を行う鍵はこのカートリッジカラムにあると考える。

カートリッジカラムのうち、従来から使用されているフロリジル, シリカゲル, C18などについてはかなりのノウハウが蓄積されているが、次々と開発される新製品の農薬残留分析へ適用には分析者の経験や知識に頼る部分が大きい。これからの農薬分析ではカートリッジカラムの果たす役割は非常に大きく、より汎用性の高いカートリッジカラムとその使用法の開発が望まれる。

引用文献

- 1) 後藤真康・加藤誠哉 (1980): 残留農薬分析法, ソフトサイエンス社.
- 2) ———— (1987): 増補残留農薬分析法, ソフトサイエンス社.
- 3) 東阪典子ら (1993): 食品衛生学会第66回学術講演会要旨集: 56.
- 4) 飯島和昭ら (1997 a): 第20回農薬残留分析研究会資料集: 143~151.
- 5) ———— (1997 b): 農薬誌 22(1): 17~26.
- 6) 池谷紀代子ら (1987): 第11回農薬残留分析研究会資料集: 15~20.
- 7) 石坂真澄ら (1999): 第22回農薬残留分析研究会資料集: 61~67.
- 8) 環境庁水質保全局 (2000): 農薬等の環境残留実態調査分析法—環境中の極低濃度農薬等の効率的分析手法—, 大蔵省印刷局.
- 9) 「今月の農業」編集室 (1998): 改訂3版農薬登録保留基準ハンドブック, 化学工業日報社.
- 10) 栗山清治・佐藤元昭 (1987): 第20回農薬残留分析研究会資料集: 152~156.
- 11) 中村優美子ら (1996): 食衛誌 37(3): 151~157.
- 12) 農薬残留分析法研究班 (1995): 最新農薬の残留分析法, 中央法規出版.
- 13) 齊藤 勲ら (1993): 愛知衛所報 43: 17~21.
- 14) 佐々木俊也・M. S. YOUNG (2001): 第24回農薬残留分析研究会資料集: 144~152.
- 15) 佐々野僚一ら (1999): 第22回農薬残留分析研究会資料集: 51~60.
- 16) 佐藤元昭ら (1999): 同上: 42~50.
- 17) 柴田吉有ら (1997): 第20回農薬残留分析研究会資料集: 44~49.
- 18) 杉本佐和子ら (1998): 第21回農薬残留分析研究会資料集: 67~75.
- 19) 上野雅子ら (2001): 2002年版残留農薬分析法, ソフトサイエンス社.