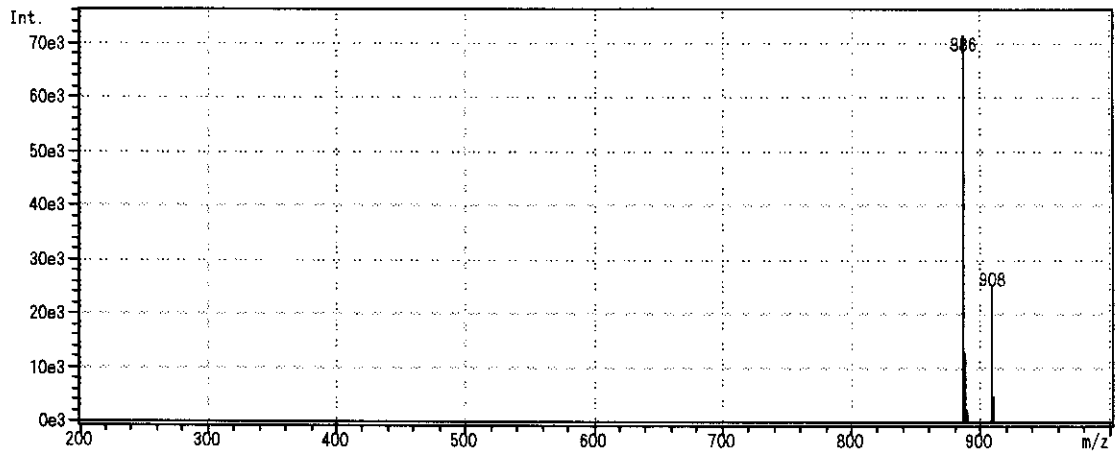
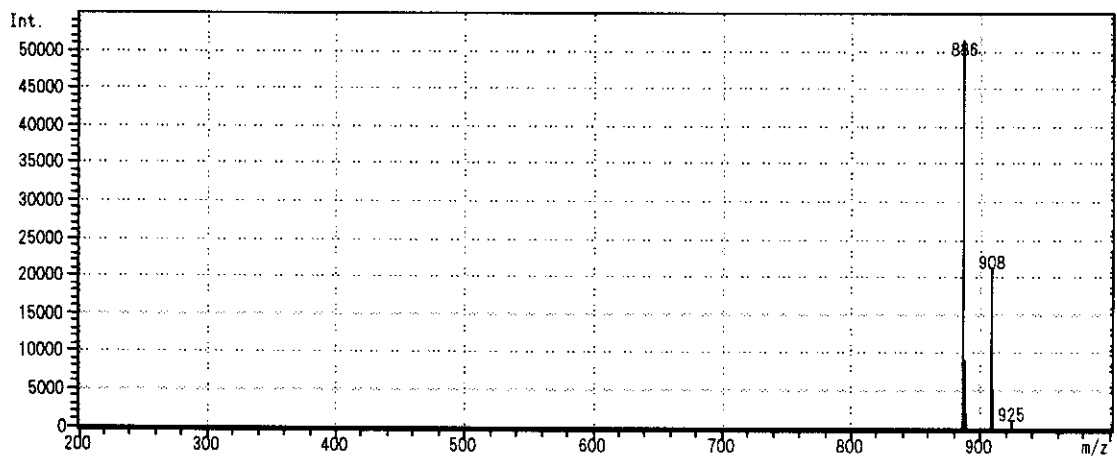


### Emamectin B1a



### 8,9-Z 異性体



### Amino

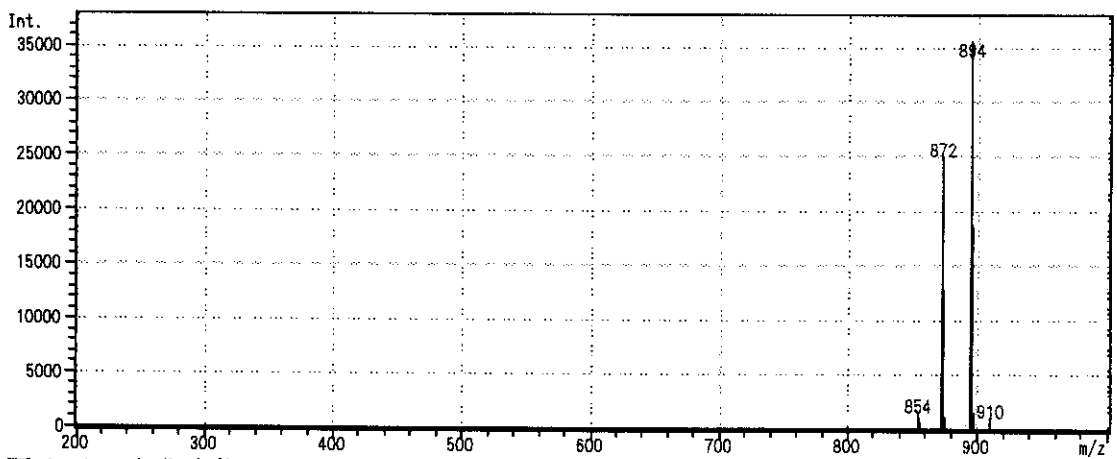
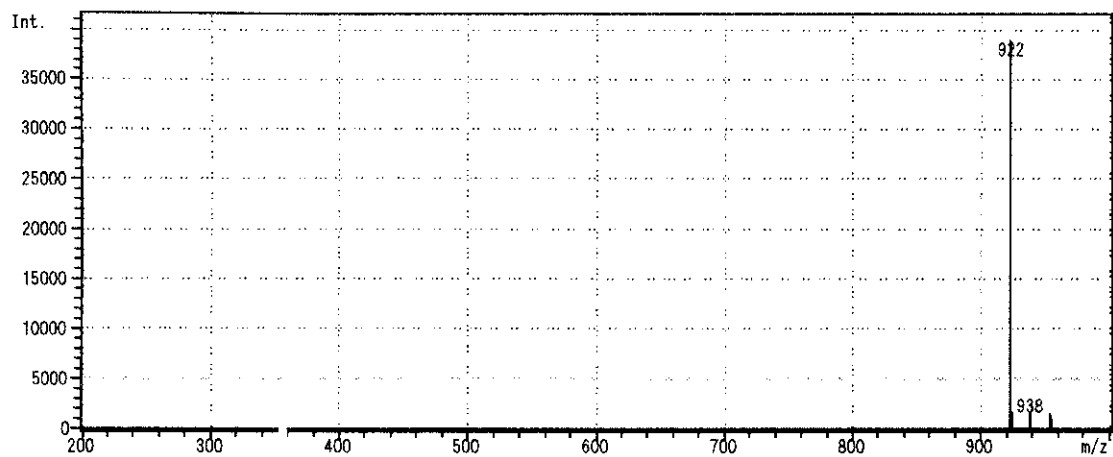
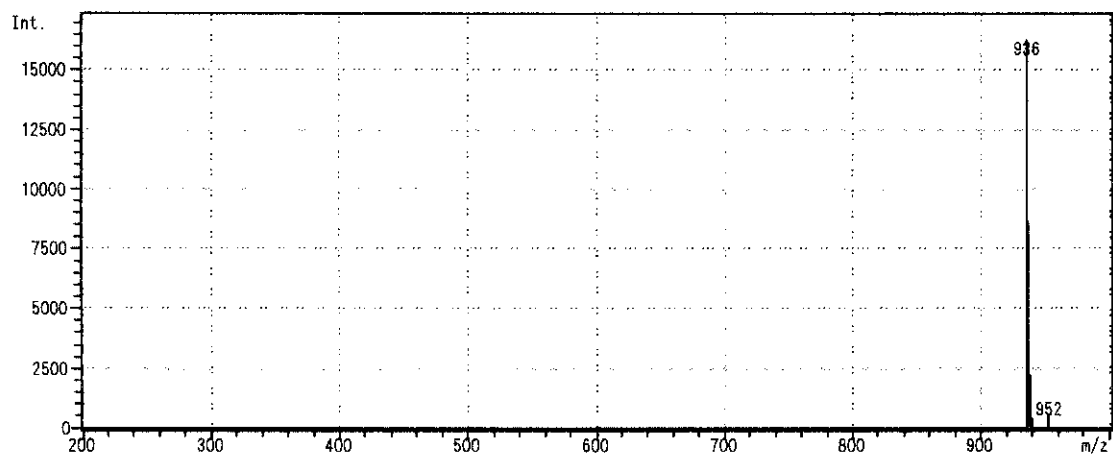


図 4-1 各化合物のマススペクトル

### FA



### MFA



### Abamectin

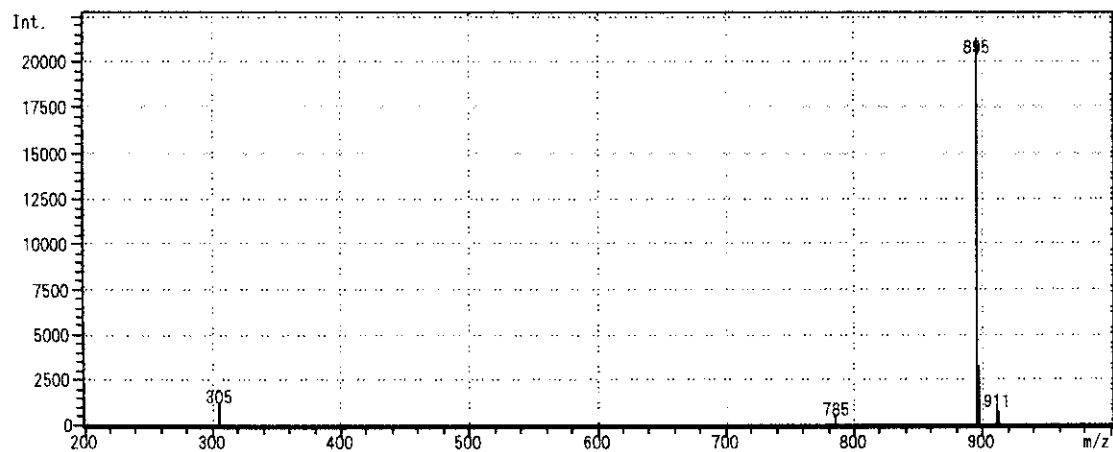
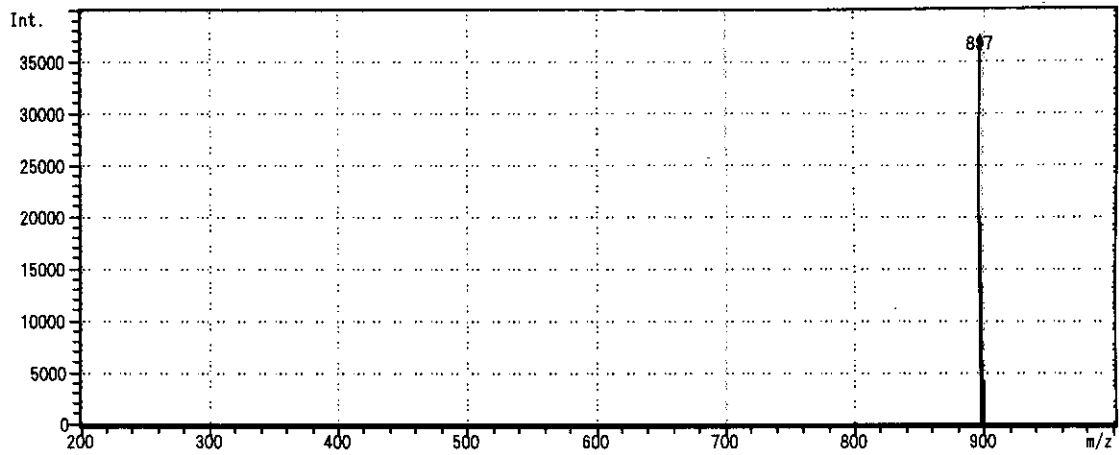
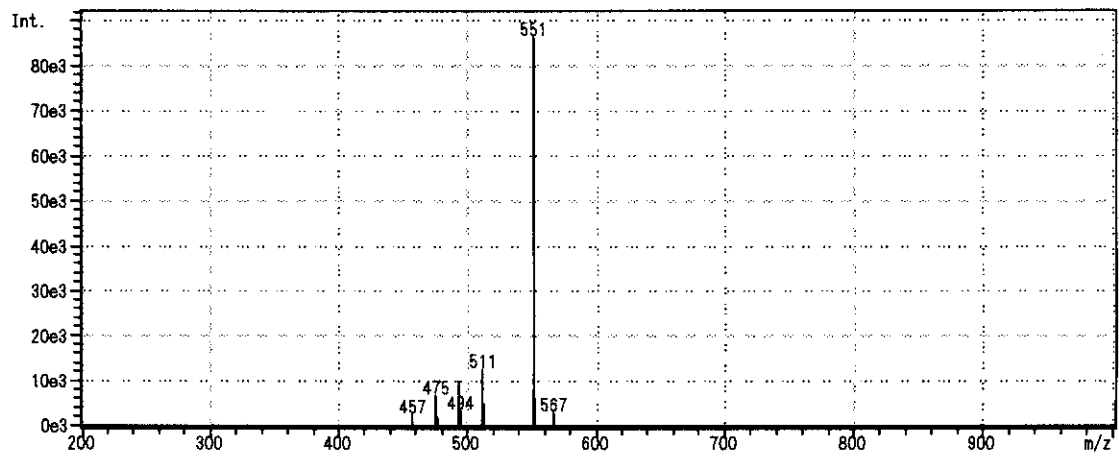


図 4-2 各化合物のマススペクトル

### Ivermectin



### Milbemectin A3



### Milbemectin A4

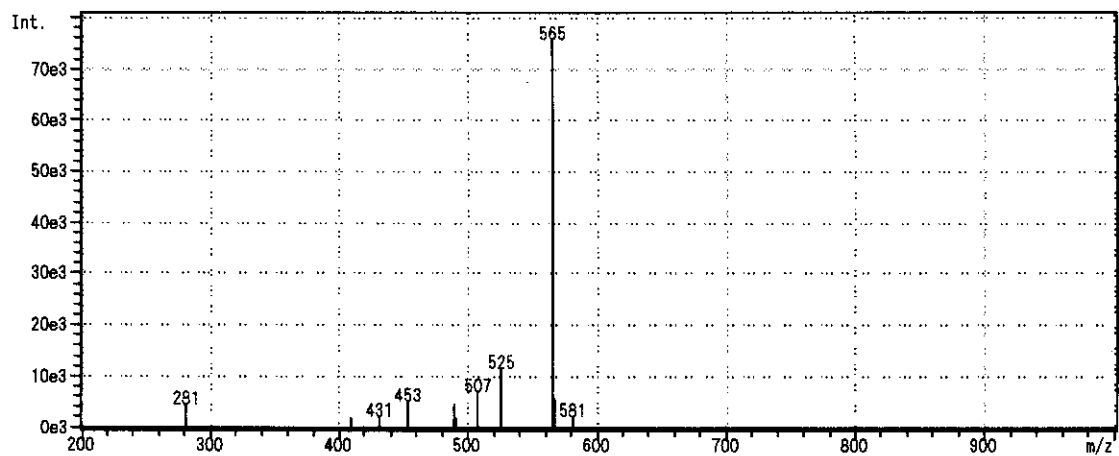


図 4-3 各化合物のマスペクトル

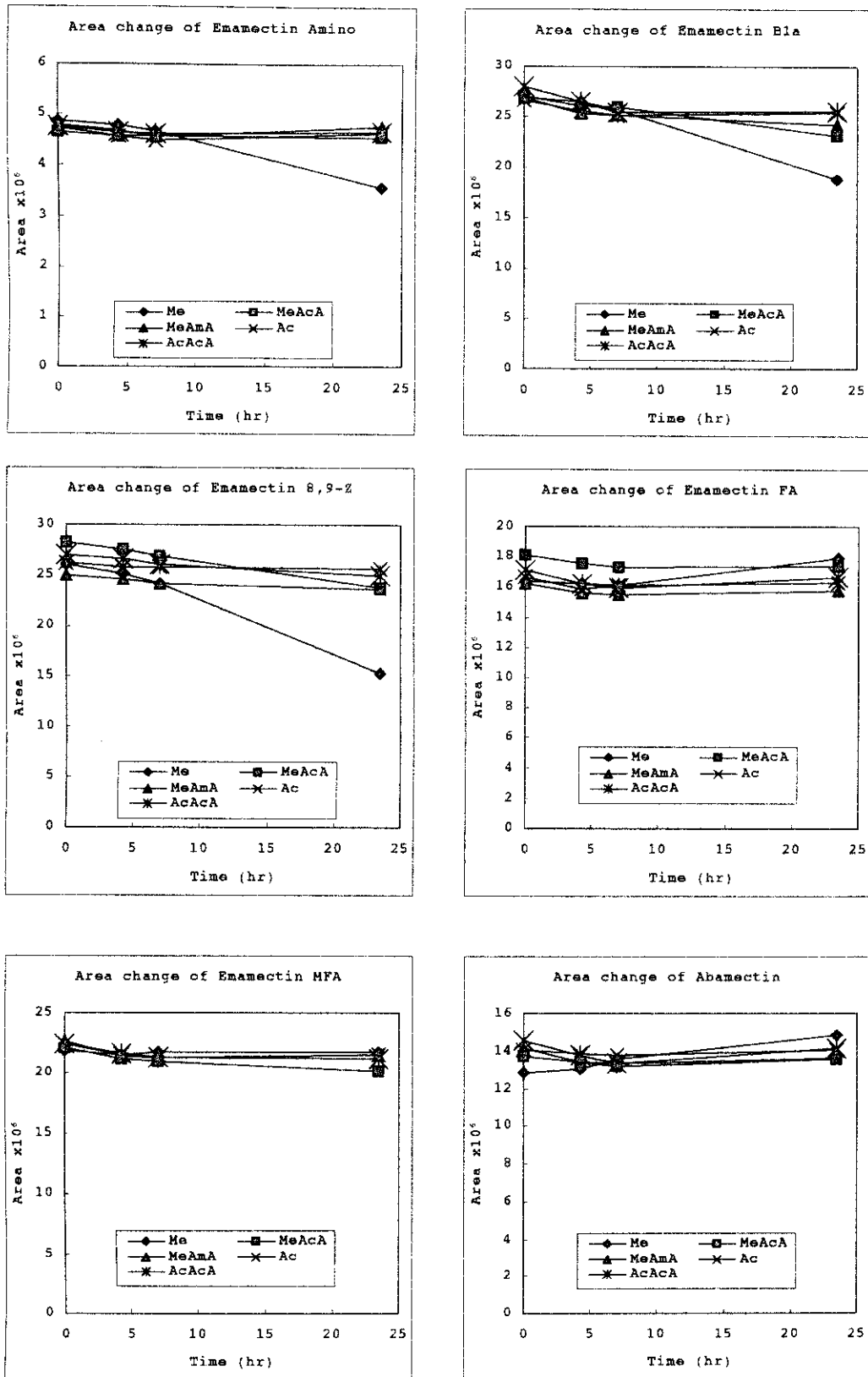


図5-1 標準溶液の溶媒の影響(各 0.5 μg/ml)

Me:メタノール、MeAcA:1%酢酸含有メタノール、MeAmA:1%酢酸アンモニウム含有メタノール、Ac:アセトニトリル、AcAcA:1%酢酸含有アセトニトリル

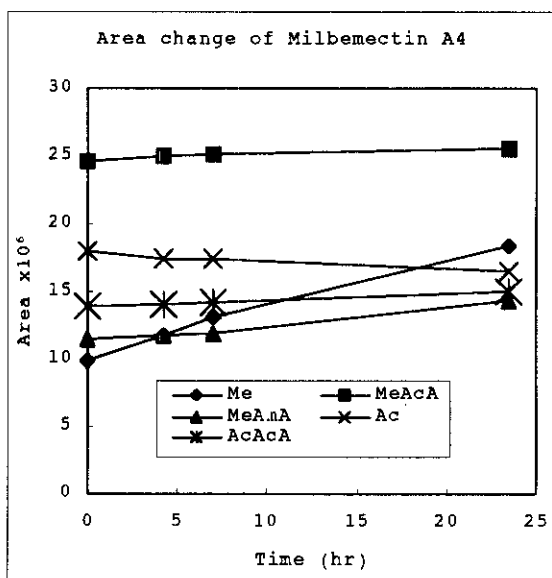
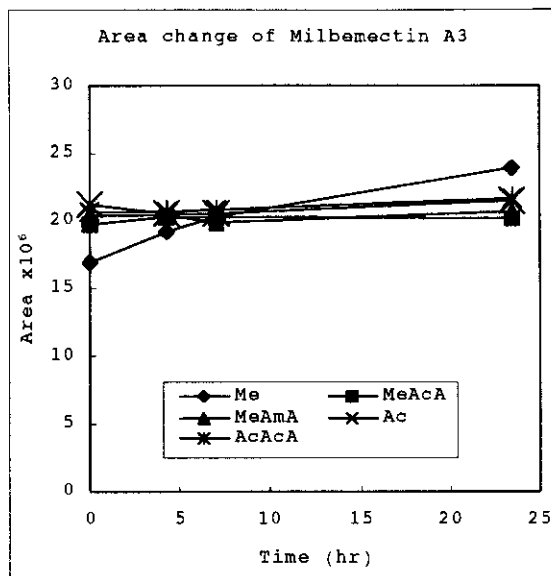
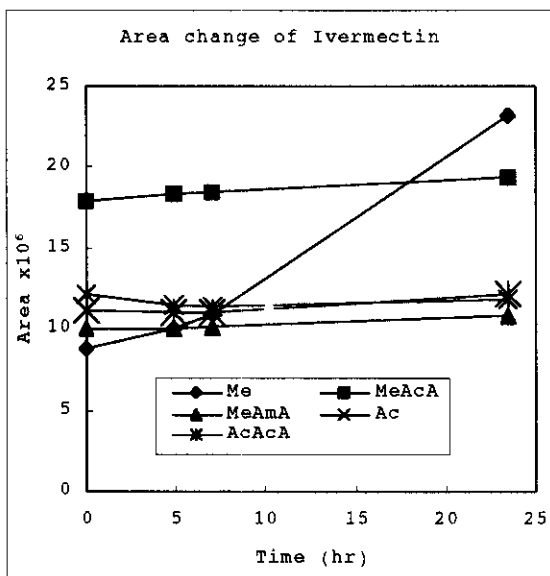


図5-2 標準溶液の溶媒の影響(各0.5 $\mu$ g/ml)

Me:メタノール、MeAcA:1%酢酸含有メタノール、MeAmA:1%酢酸アンモニウム含有メタノール、Ac:アセトニトリル、AcAcA:1%酢酸含有アセトニトリル

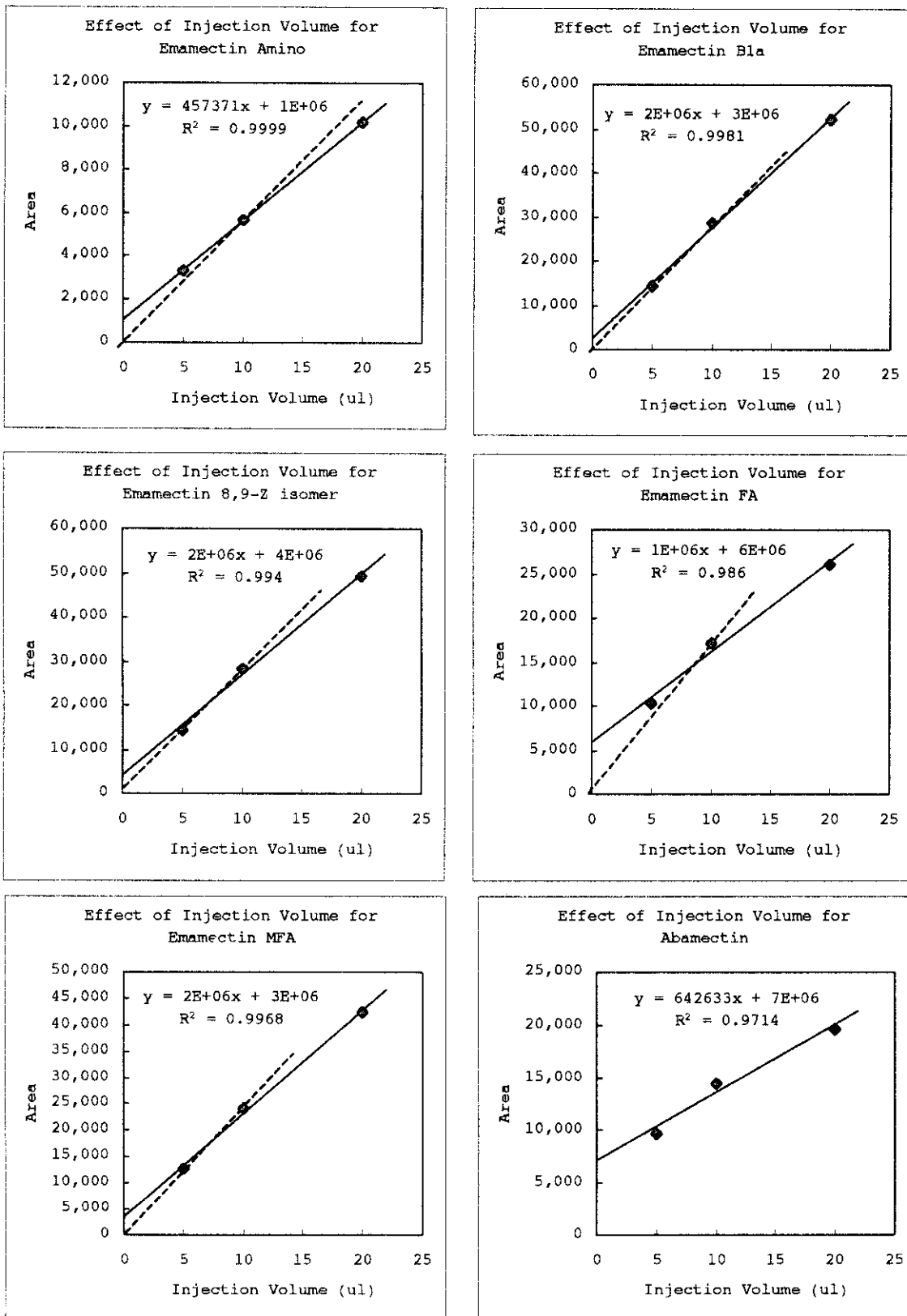


図 6-1 注入量とピーク面積の関係(各 0.5 μg/ml)

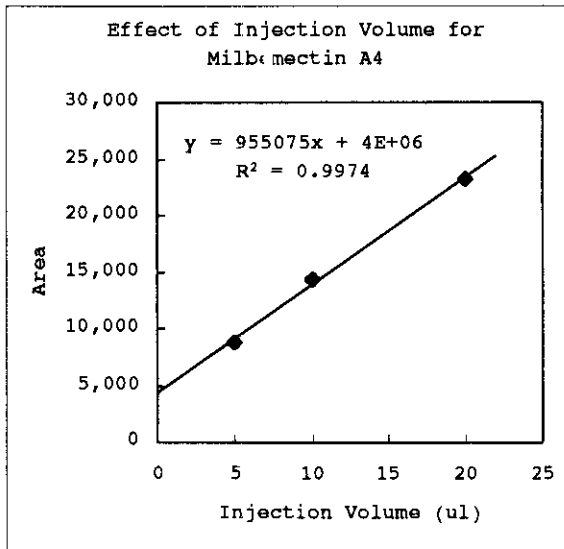
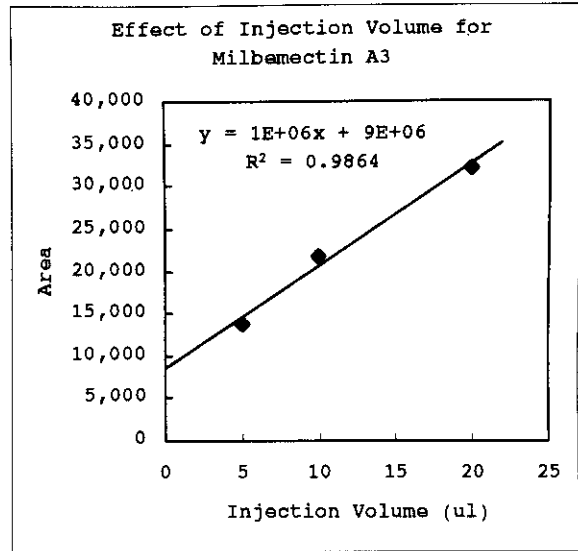
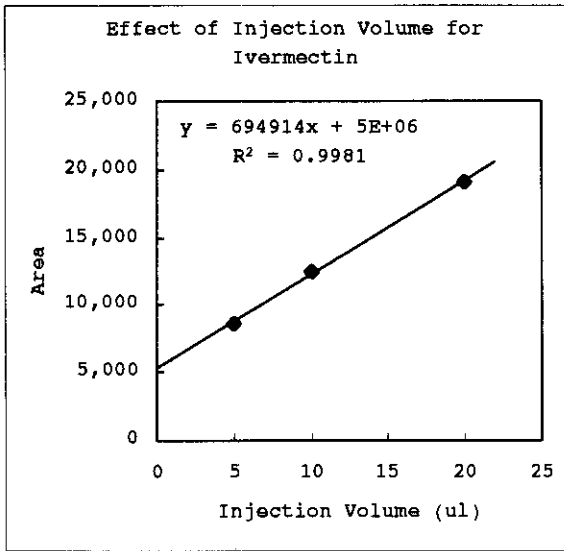


図 6-2 注入量とピーク面積の関係(各  $0.5 \mu\text{g/ml}$ )

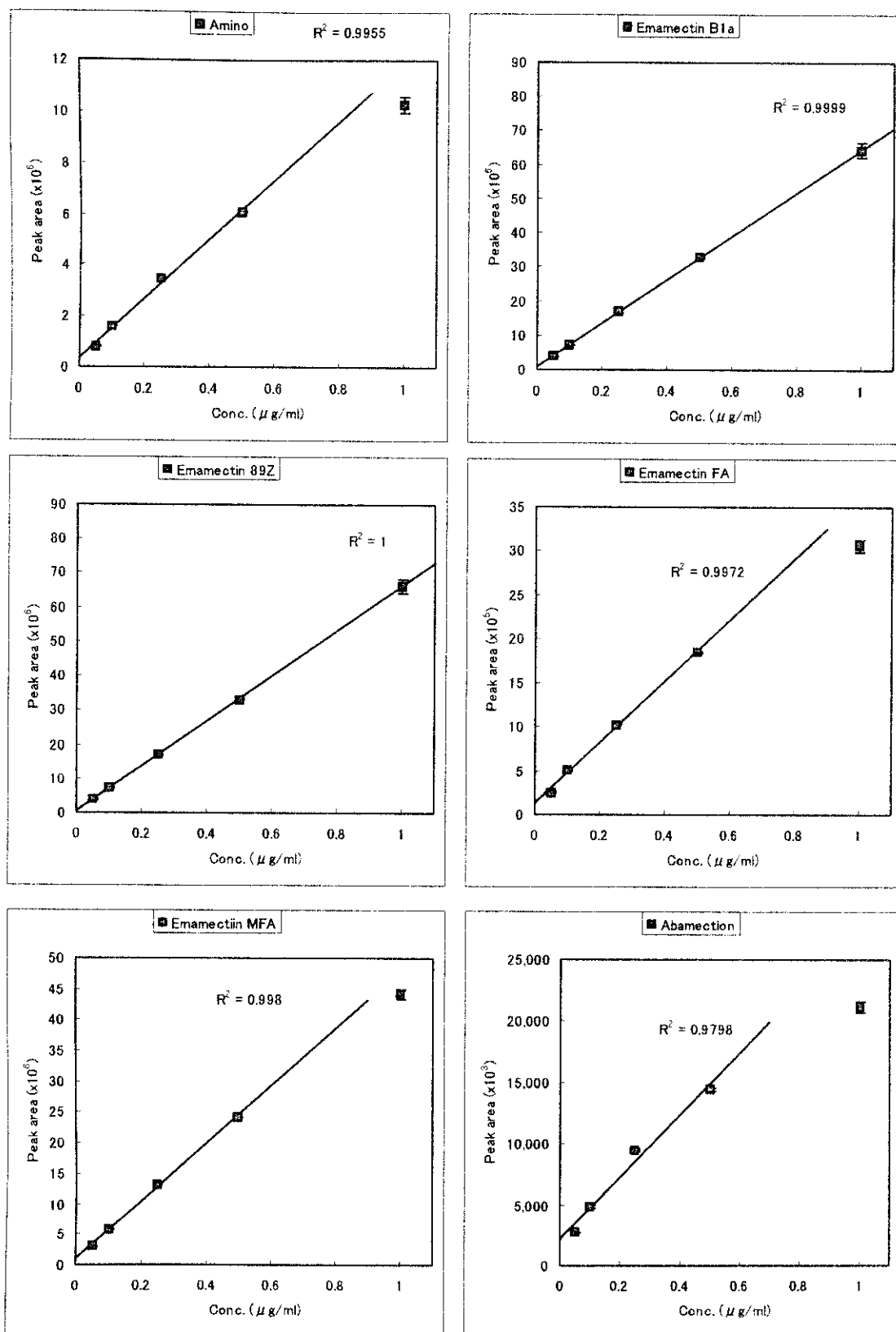


図7-1 各化合物の検量線



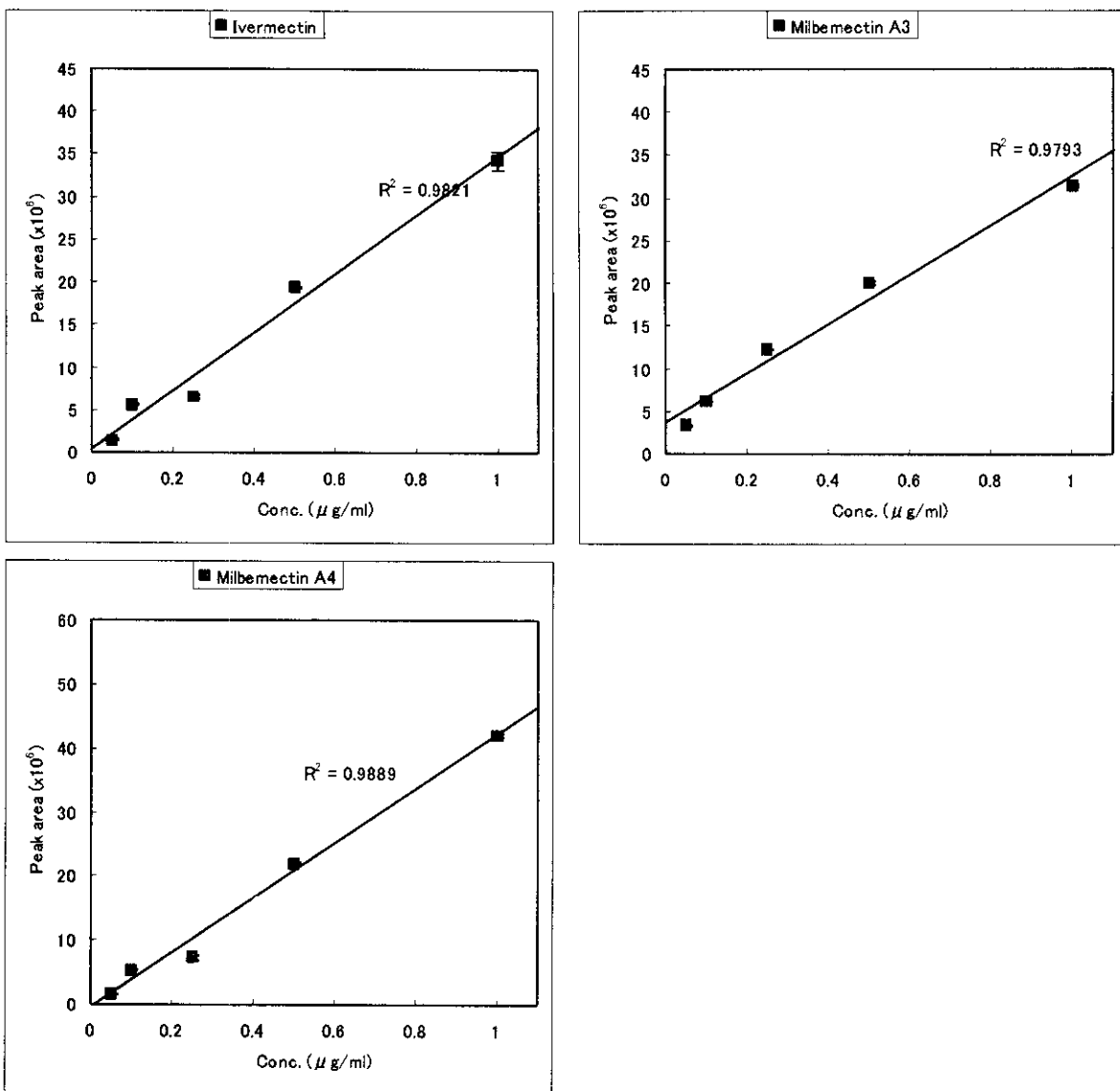


図7-2 各化合物の検量線

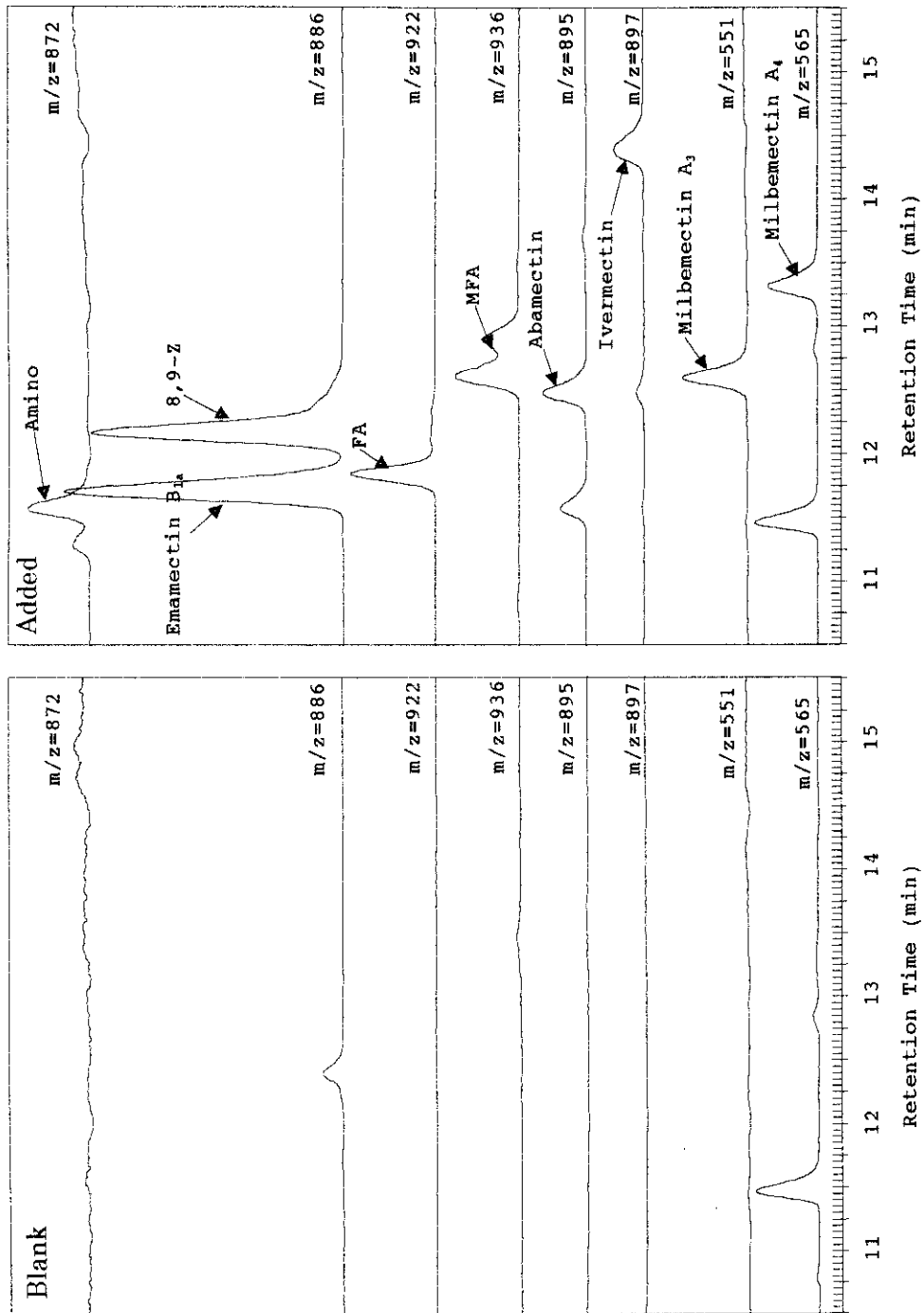


図8-1 トマト試料のマスクロマトグラム (C18処理)

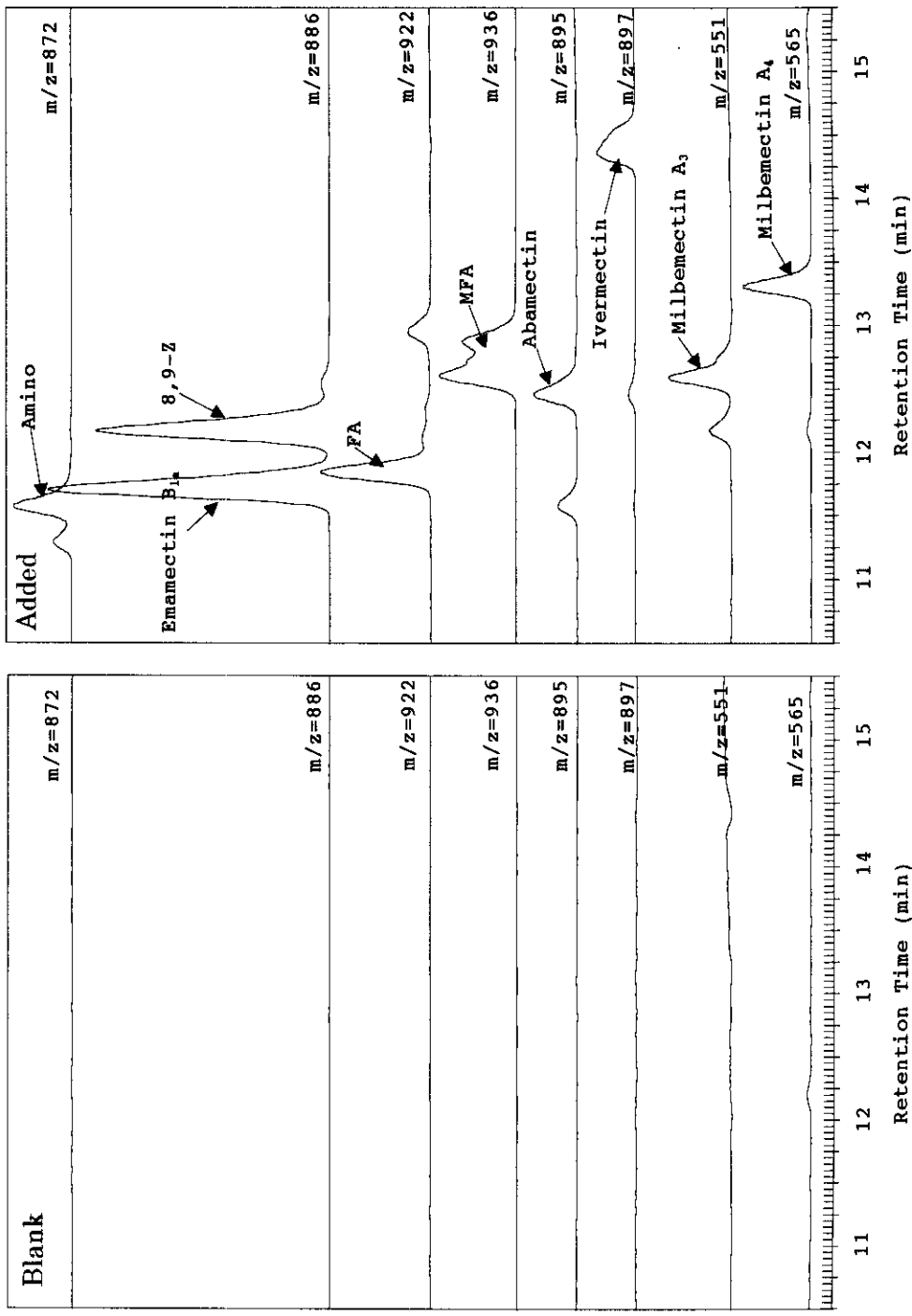


図 8-2 だいこん試料のマスプロトグラム (C18 処理)

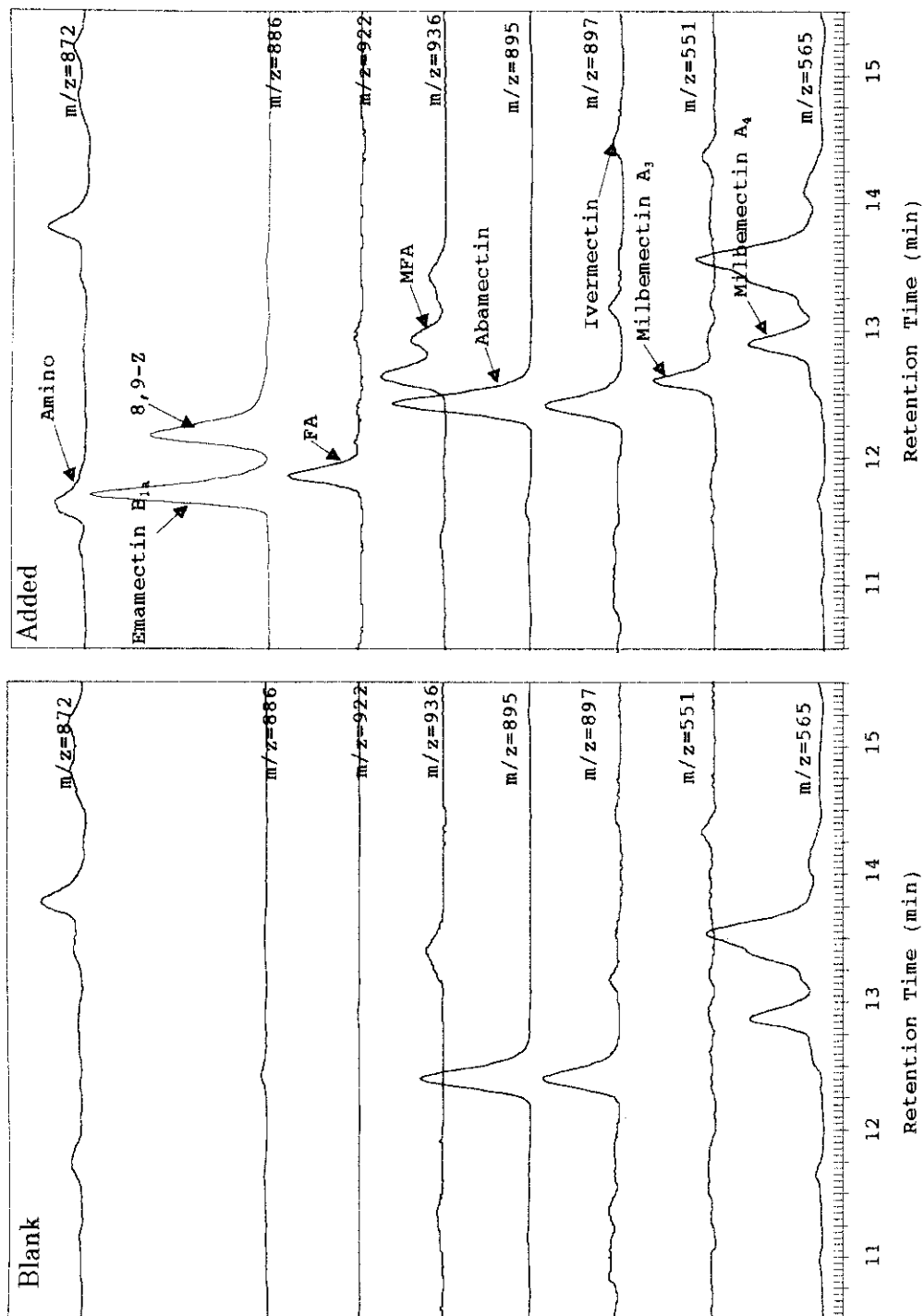


図 8.3 茶試料のマスキングマクロマトグラム (C18 カラム処理)

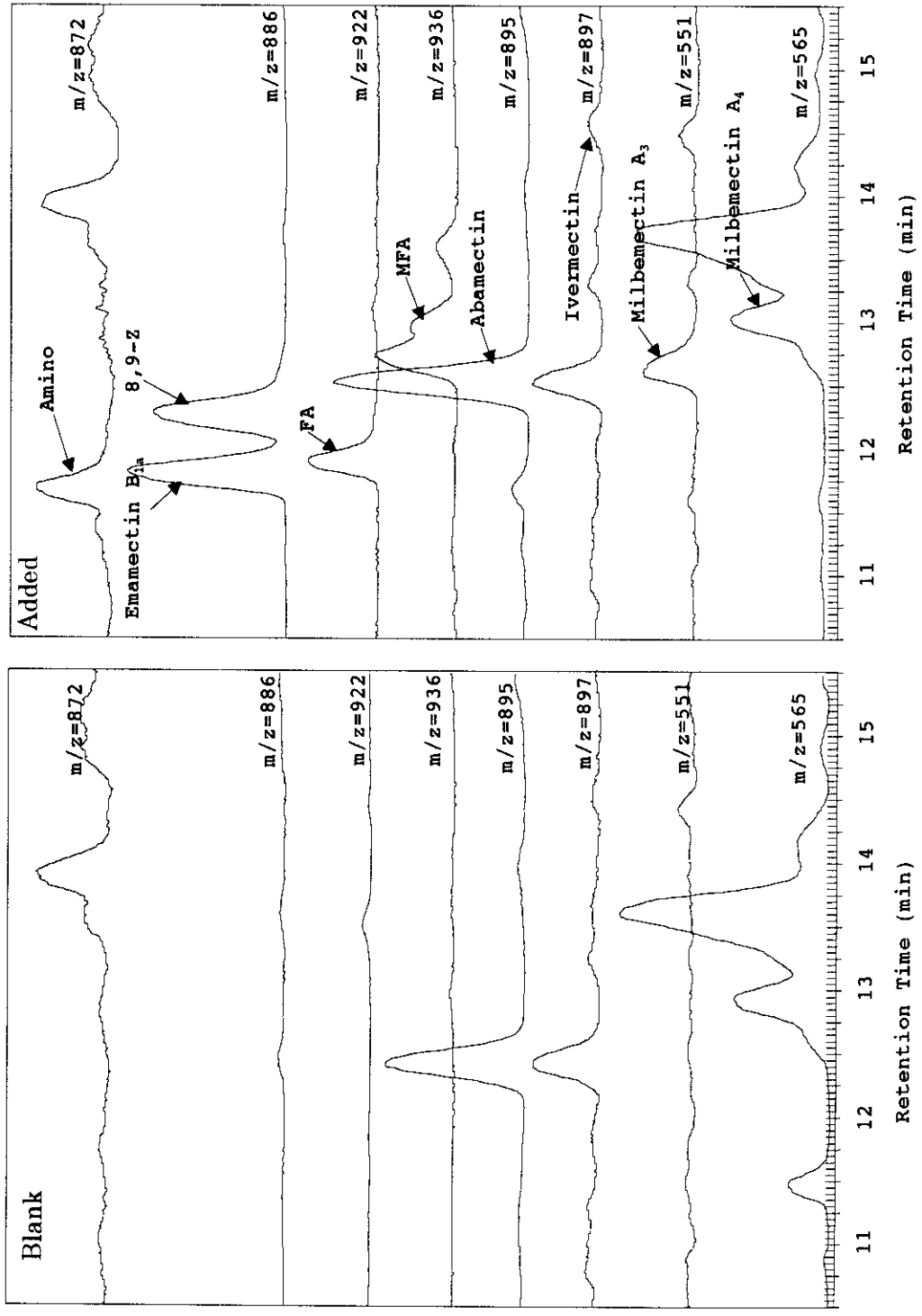


図8-4 茶試料のマスキングマトグラム (C18+NH<sub>2</sub>カラム処理)

厚生労働科学研究費補助金(食品・化学物質安全総合研究事業)  
分担研究報告書

各種手法による残留農薬分析の効率化と精度向上に関する研究  
(1)昇温気化注入を用いた GC 大量注入法の検討

分担研究者 根本 了 国立医薬品食品衛生研究所 食品部主任研究官

### 研究要旨

昇温気化 (PTV: Programed Temperature Vaporizing) 注入を用いた GC 大量注入法における注入過程は、注入口における農薬と溶媒の分離及び溶媒の排出 (第 1 段階) 及び農薬の分析カラムへの定量的な移動 (第 2 段階) の 2 段階に大別される。第 1 段階では、農薬は気化せずに、溶媒のみが気化して排出される。この時、溶媒の気化の度合いは、溶媒により異なるため、注入に用いる溶媒の種類を固定する必要がある。そこで、既存の局長通知の残留農薬迅速分析法において、シリカゲルミニカラムによる精製で溶出溶媒に用いられているアセトン:ヘキサン(1:1)を注入溶媒に用いた。第 1 段階に関連するパラメーターとして、溶媒の排気温度、排気流速及び排気時間について、第 2 段階に関連するパラメーターとして、移動温度、移動温度に達するまでの昇温速度及び移動時間について、様々な種類の約 130 農薬を用いて最適化を行った。その結果、PTV 注入を用いた GC 大量注入法として、マルチプルインジェクションにより試験溶液 25  $\mu\text{L}$  (5  $\mu\text{L}$   $\times$  5 回) を注入する方法を確立した。本法を用いることにより、既存の通知法のシリカゲルミニカラム精製後の溶出液を濃縮することなく直接 GC 測定可能となる。これにより試験溶液調製における濃縮操作を簡略化することができ、調製時間の短縮が図れるとともに、分析精度の向上が期待できる。

### A. 研究目的

キャピラリー GC を用いた残留農薬分析では、一般的にスプリットレス注入が用いられている。この場合の注入量は、気化により生成する溶媒蒸気の体積によって制限され、通常 1 ~ 2  $\mu\text{L}$  である。これに対して、大量注入は数十から数百  $\mu\text{L}$  を注入する方法である。大量注入を行うことの利点としては、試料の注入量を多くすることによる分析感度の上昇と試料調製の省力化が上げられる。従来のキャピラリー GC 測定では、必要な測定感度を得るために、試験溶液を濃縮する操作が不可欠であったが、大量注入では、注入量を多くすることによって検出限界が下がり、そのため試験溶液の濃縮操作を簡略化、場合によっては省略することができる。試験溶液調製において濃縮操作は、揮発性の高い農薬の損失や人為的なミスによる損失などを引き起こしやすい操作である。大量注入法を用いることにより、濃縮操作を簡略化 (あるいは省略) することができれば、試験溶液の調製時間を短縮することができるのみならず、残留農薬分析の一層の精度向上が期待できる。

大量注入法としては、①オンカラム注入法、②ループタイプ注入法、③昇温気化 (PTV: Programed Temperature Vaporizing) 注入法などが報告されている<sup>1) 2)</sup>。これらの手法に共通しているのは、大量の溶媒が分析カラムに導入されないようにする工夫がなされている点である。このうち、オンカラム注入法は、正確で熱分解性化合物の分析に優れているが、試料を全量カラム内に注入するため、不揮発性成分によるカラムの汚れを避けることができない。そのため、食品のようなマトリックスの多い試料には不向きである。ループタイプ注入法では、ループ内に試料を注入後、バルブを切り替えて試料をリテンションギャップに導入する方法で、もともとは LC-GC のインターフェースとして開発された。基本的にはオンカラム注入法と同様に全量をカラムに導入するため汚れに弱く食品試料には不向きである。PTV 注入法は、基本構造は従来のスプリット/スプリットレス注入口と同じであるが、注入口が低温の状態に注入し、その後急速に昇温して分析対象物質を分析カラムに移動させる手法である。この場合、

低温の状態で行うため、熱分解性農薬の分解抑制や揮発性農薬の保持が期待できる。また、移動の際の温度を選択することにより不揮発性成分が分析カラムに入るのをできるだけ抑制することが可能である。そのため、PTV 注入法は、オンカラム法に比較してマトリックスの多い試料に適した方法である。食品試料は、試験溶液中のマトリックス量が多いため、汚れに強い注入法が望まれる。そこで、本研究では PTV 注入を用いた GC 大量注入法について検討を行うこととした。また、注入量を多くする方法としては、注入速度を制御して1回で多量の試験溶液を注入する方法や少量を多数回注入する方法（マルチプルインジェクション法）などがあるが、今回はマルチプルインジェクション法について検討した。検討にあたっては、様々な種類の約 130 農薬を含む標準溶液を用いて、PTV 注入法における各種パラメーターの最適化を行った。

## B. 研究方法

### 1. 試薬及び試液

試薬：アセトン及び *n*-ヘキサン（ヘキサン）は残留農薬分析用試薬（和光純薬工業株式会社）または関東化学株式会社製）を使用した。

農薬標準品：いずれも林純薬工業株式会社、関東化学株式会社、和光純薬工業株式会社または Riedel-de Haën 社製の残留農薬試験用試薬を用いた。表 1 に検討に用いた農薬を示した。なお、アルジカルブは GC 注入時に容易に分解するため分解物を測定した。

農薬標準原液：各農薬標準品をヘキサンの溶解して（溶解しにくい場合にはできるだけ少量のアセトンで溶解後ヘキサンで希釈して）1 mg/mL の濃度に調製し冷凍庫(-30℃)に保存した。

農薬標準混液：各農薬標準原液をとり、アセトンを加えて 10 µg/mL（アセタミプリド、アセフェート、アルジカルブ、イプロジオン、イプロジオン代謝物、イミペンコナゾール代謝物 2、カプタホール、メタミドホス、バミドチオン及びプロパモカルブは 50 µg/mL、オキサミルは 100 µg/mL）の濃度に調製し、冷凍庫(-30℃)に保存した。検討には農薬標準混液をアセトン：ヘキサン(1:1)で 500 倍希釈した溶液を用いた。

### 2. 装置

GC/MS：Hewlett Packard (HP)社製ガスクロマ

トグラフ HP6890（オートサンプラー HP7683 付）及び同社製質量分析計 HP5973 を使用した。また、液化炭酸ガス（純度 99.99 %）を冷却に用いる PTV 注入口（HP 社製）を使用した。

### 3. 操作条件

GCカラム：J&W Scientific 社製のキャピラリーカラム DB-5ms（内径 0.25 mm，長さ 30 m，膜厚 0.25 µm），リテンションギャップ：Agilent Technologies 社製の不活性化キャピラリーカラム（内径 0.25 mm，長さ 2 m），トランスファーライン温度：300℃，イオン源温度：220℃，四重極温度：150℃，キャリアーガス：ヘリウム，イオン化電圧：70 eV (EI モード)，エレクトロンマルチプライヤ電圧：2800 V，測定方法：SIM (selected ion monitoring) モード（モニターイオンは表 1 参照）。なお、キャプタン及びカプタホールの共通の分解生成物であるテトラヒドロフタルイミド (THFI) 及びジコホールの分解物である 4,4'-ジクロロベンゾフェノン (DCBF) も同時にモニターした。その他の操作条件は表 2 に示した。

## C. 研究結果

大量注入で用いられる PTV 注入法については、オーバーフロー法や溶媒排気 (solvent vent) 法などいくつか報告されている<sup>1)</sup>が、使用した GC/MS 装置に設置可能な PTV 注入口（図 1）では、溶媒排気注入法が用いられている。PTV 溶媒排気注入法では、分析対象物質をライナ内に残したまま溶媒蒸気をスプリット出口から排気し、溶媒の排気後スプリットレスモードで分析対象物質を分析カラムに導入する方法である。低温で注入を行うため熱分解性農薬の分解抑制や揮発性農薬の保持が期待できる。また、難揮発性・不揮発性物質をライナ内に残したまま分析対象物を分析カラムに導入するため、従来のスプリットレス注入に比べカラムが汚れにくく、食品試料などマトリックスの多い試料に適している方法である。

大量注入法では多量の試料を注入するため、そのままでは試料が保持されずにスプリット出口から直接排出されるほか、過剰な溶媒が分析カラムに入ることになる。そのため、大量注入では溶媒のみを排気する工夫がなされている。大量注入のための注入法としては、① speed-controlled injection ② at-once injection, ③ multiple injection などが報

告されている<sup>1)</sup>。このうち① speed-controlled injection は、溶媒の排出と試料注入速度を同じにすることが必要であり、注入速度の制御が難しい。② at-once injection は、一度に多量の試料を注入するため、試料溶液を保持する充填剤が必要になり、分解性農薬には不向きである。multiple injection (マルチプルインジェクション) 法は、少量の試料を多数回注入する方法で、注入速度の微妙な制御が不要であり、充填剤を使用しなくて良い。また、注入回数を増やすことにより理論的にはいくらかでも注入量を増加できるといった特徴を持っている。これらのことから、今回はマルチプルインジェクション法について検討した。

### 1. 検討パラメーターの選択

検討すべきパラメーターについては、これまでの報告<sup>1)~3)</sup>や装置の制約などにより、あらかじめ固定するものと、変動させて最適条件を探すものとに分けて次のようにまとめた。

#### 1.1 固定パラメーター

##### (1) 注入溶媒

沸点が異なれば気化速度も異なり、そのため溶媒により最適な条件も異なる。今回は、既存の局長通知の残留農薬迅速分析法<sup>9)</sup>において、シリカゲルミニカラムを用いた精製で溶出溶媒に用いられているアセトン：ヘキサン(1：1)を注入溶媒に用いた。

##### (2) ライナ

PTV 用のライナには、ライナ内に試料を保持するための充填剤(ガラスウールなど)を詰めたものと何も詰めていないものがある。充填剤の使用は、試料の保持量を多くすることができ、また揮発性の高い農薬の保持には有効であるが、農薬の吸着や分解の可能性があるため、充填剤のないライナを用いることとした。充填剤がない場合には、試料の保持量が少なくなるため、ライナ内の表面積を多くして試料がライナ内に留まりやすくするために、内部に複数の突起を付けたマルチバツフルライナを使用した。

##### (3) 注入量

PTV 溶媒排気注入法では、注入後農薬をライナ内に残したまま溶媒蒸気の排気が行われる。この時完全に溶媒を排気させないでライナ内に少量の溶媒を残して溶媒膜を形成させる必要がある。これは、残った溶

媒が擬似固定相の役割をして揮発性物質を保持し損失を防ぐためである。マルチプルインジェクションでは、ライナ内に少量の溶媒が残った状態で次の注入が行われることになる。そのため、ライナが保持できる液体の最大量( $V_{max}$ )で注入を繰り返すとライナが試料を保持しきれない。使用したマルチバツフルライナの  $V_{max}$  は実測の結果 6~7  $\mu\text{L}$  であった。従って、1回の注入量はライナ内の残留量との合計が 6~7  $\mu\text{L}$  以下になるように設定する必要がある。1回の注入量を 5  $\mu\text{L}$  とした場合、次の注入までにライナ内に溶媒を 1~2  $\mu\text{L}$  残しておくことができる。この量は溶媒排気条件を検討するには十分と思われたことから、1回の注入量は 5  $\mu\text{L}$  とした。

また、全注入量については、マルチプルインジェクションの場合、注入回数を増やすことにより理論的にはいくらかでも注入量を増加できる(使用したオートサンプラーでは 99 回まで設定可能)。既存の通知法<sup>9)</sup>のシリカゲルミニカラム精製ではアセトン：ヘキサン(1：1) 20 mL で農薬を溶出している。実際には、抽出液 2 mL を注入してから溶出溶媒 20 mL で溶出するので、全体の液量は 20 mL 以上になる。そのため、最終液量を 25 mL 定容して測定用試験溶液とすれば濃縮操作がなく簡便でよい。この時、通知法では溶出液を 2 mL に濃縮して 2  $\mu\text{L}$  を GC に注入しているの、同じ感度を得るためには 25  $\mu\text{L}$  注入する必要がある。よって、今回の検討では、全注入量は 25  $\mu\text{L}$  (5  $\mu\text{L}$  × 5 回) とした。より高感度化を図る場合には、注入回数を増加させることで対応可能と思われる。

##### (4) カラム初期温度

カラム初期温度はできるだけ低い方が溶媒効果やコールドトラップ効果により再濃縮が図れるが、GC オープンに冷却装置がない場合には室温以下に下げることができず、また室温付近まで冷却するには時間がかかる。PTV 溶媒排気注入法の場合、注入口から分析カラムへ分析対象物質を移動した後は、通常のスプリット分析と同じ状態になる。そのため、カラムの初期温度はこれまでの GC/MS 分析で良好な結果が得られていた 50 °C を用いた。なお、昇温開始以降の GC 測定条件はこれまでの GC/MS 分析で用いていた条件を使用した(表 2)。



## 1.2 変動パラメーター

図 2 には PTV 注入を用いた大量注入法の流れを示した。まず第 1 段階の溶媒排気 (solvent vent) では、溶媒の沸点以下で試料を注入後、農薬は気化せずに溶媒のみが気化して排気される。次に第 2 段階の試料移動 (sample transfer) では、注入口が加熱されて農薬が分析カラムへ移動する。その後、分析カラムに送られた農薬は、通常のスプリットレス分析と同じように GC 分離される。表 3 に示したように、第 1 段階の溶媒排気に関連するパラメーターとしては、①排気温度 (venting temperature)、②排気流速 (vent flow rate) 及び③排気時間 (venting time) の 3 つのパラメーターが関与している。また、第 2 段階の試料移動に関連するパラメーターとしては、①移動温度 (transfer temperature)、②注入口昇温速度 (injection ramp rate) 及び③移動時間 (transfer time) の 3 つのパラメーターが関与している。

### 1.2.1 溶媒排気に関連するパラメーター

このステップでは、まず注入口における農薬と溶媒との分離 (特に揮発性農薬の保持) が重要になる。続いて、溶媒蒸気のみをスプリット出口から排気するが、その際農薬の損失をできる限り少なくする必要がある。農薬の損失を抑えるためには、1.1 (3) 注入量の項でも述べたように、溶媒を完全に蒸発させないでライナ内に溶媒膜を形成させる必要がある。ここで、3 つのパラメーターの効果をまとめると以下のようになる。

①排気温度：PTV 注入口の初期温度で、溶媒の沸点より下げることにより試料は液体のまま注入される。低温であるほど揮発性農薬の保持効果が増大するが、溶媒の蒸気圧も下がるので排気時間が長くなる。

②排気流速：溶媒蒸気をスプリット出口を通して排気するために流すキャリアガスの流速である。流速が早いと排気される溶媒蒸気の量が多くなるため、溶媒の気化速度が速くなり、より短時間で溶媒蒸気を排気できるが、揮発性農薬の損失の可能性も高くなる。遅い場合には、揮発性農薬の損失を防ぐことができるが排気時間が長くなる。

③排気時間：注入口での溶媒濃度が減るに従い農薬の分圧が上昇するため損失の可能性が高くなる。そのため、ライナ内の溶媒

がすべて排気される前に排気を終了するように設定する必要がある。

このように 3 つのパラメーターは相互に関連しており、最適な結果を得るためにはこれらを適切に設定することが不可欠である。

### 1.2.2 試料移動に関連するパラメーター

溶媒排気終了後、ライナ内に保持された農薬は、注入口を加熱することにより気化され、分析カラムへと移動する。ここでの目標は、農薬を定量的に分析カラムへ移動することである。このステップでの 3 つのパラメーターの効果をまとめると以下のようになる。

①移動温度：低温では農薬の気化が不十分で定量的な移動ができない。また、高温すぎると、不要な高沸点成分も気化しカラムに導入されることになる。高沸点成分をライナ内に残したまま、農薬を選択的に気化させるための温度設定が必要である。

②注入口昇温速度：昇温速度については、遅い方が農薬が揮発するのに必要な最小限度の温度でカラムに移動することができるため、農薬の分解が抑制されるとする考え方と、反対に瞬間的な加熱の方がより短時間で気化してカラムへ移動するので、熱的な負担を減らすとともに、吸着による分解を減少させる効果があるとする、相反する考え方がある<sup>3)</sup>。

③移動時間：スプリット出口を閉じ、キャリアガスで農薬をカラムに移動する時間であり、この間はカラムにしかキャリアガスは流れてない状態である。時間が短い場合には移動が不十分となりピーク面積が減少し、長すぎる場合には試料バンドが拡散する可能性がある。

## 2. 溶媒気化時間の測定

溶媒排気過程においてライナ内で溶媒膜を形成させるためには、溶媒が完全に気化し排気される時間 (溶媒気化時間) より短い排気時間を設定すればよい。溶媒の気化速度は、注入口温度と排気流速により変化する。アセトン：ヘキサン (1:1) 5  $\mu$ L の 1 回注入時における溶媒気化時間と注入口温度、排出流速との関係について検討した。溶媒を注入すると大部分の溶媒はスプリット出口から排気されるが一部はカラムに移動するので、この溶媒ピークをモニターし、そのピーク幅から溶媒気化時間を求

めた。図3には注入口温度を10～200℃、流速を25～200 mL/minの範囲で変化させて、溶媒気化時間を測定した時の結果を示した。

今回は、マルチプルインジェクションを行うため、注入から次の注入までの時間(注入間隔)を実測したところ約0.11分であった(用いた装置はコンピュータソフト上で注入時間を計算する機能があるが、実測した時間よりも長い計算値となるため検討には実測値を用いた)。ライナー表面で溶媒膜を形成するためには、この0.11分間に完全に溶媒が気化して排気されてしまわずに、一部がライナー内に留まっていなければならない。仮に注入溶媒の20%(5 μL注入時1 μL)を残存させると仮定すると、溶媒気化時間は0.14分以上なければならない。図3に示したように、注入口温度が50℃以上ではいずれの流速でも溶媒気化時間は0.14分未満となり気化が早すぎるため不適當である。また、流速に関しては、100 mL/minと200 mL/minでは、ライナー温度に関係なくほぼ同じ溶媒気化時間となった。以上のことから、排気温度は40℃以下、排気流速は100 mL/min以下の範囲内に最適な溶媒排気条件があると考えられた。そこで、次に実際に農薬標準溶液を注入して検討した。

### 3. PTV パラメーター最適化のための予備検討

農薬標準溶液を注入してそのピーク面積の変化から最適な溶媒排気条件を求めるためには、あらかじめ試料移動条件を求めておかなければならない。そのため、先の溶媒気化時間の測定結果から、暫定的に排気温度30℃、排気流速100 mL/min及び排気時間0.5分として試料移動条件を求めた(試料移動条件については、溶媒排気条件を求めた後、再度最適化を行った)。また、使用した装置は注入遅延時間(injection delay)を設定できるが、これは注入時間に追加する時間を設定するもので、高沸点溶媒など、気化に時間がかかる場合には有効であるが、今回用いた注入溶媒は十分な気化速度を持っているため注入遅延時間は設けず0 secとした。また、使用した装置は溶媒排気時のカラムヘッド圧を設定できる。溶媒排気時のカラムヘッド圧を下げると、排気時にカラムへ流入する溶媒蒸気の

量が減少するとともに、スプリット出口からの排出流量が大きくなり、溶媒の排気時間が短縮される。通常は過剰の溶媒をカラムに流したくないので、最小値である0 psiに設定した。検討は農薬標準混液を25 μL(5 μL×5回)注入し、農薬のピーク面積を指標として行った。そのほかの条件は、表2に記載の条件を用いた。移動温度200～400℃、注入口昇温速度60～720℃/min及び移動時間0.5～2分の範囲で試料移動条件について検討した結果、移動温度250℃、注入口昇温速度720℃/min及び移動時間2分の結果が得られた。

## 4. PTV パラメーターの最適化

### 4.1 溶媒排気条件の検討

予備検討で得られた試料移動条件(移動温度250℃、注入口昇温速度720℃/min及び移動時間2分)用いて、溶媒排気条件の検討を行った。農薬標準混液の注入量は25 μL(5 μL×5)を用いた。そのほかの条件は特に記載のない限り表2の条件を用いた。また、実験結果は2～3回の繰り返し注入の平均値を用いた。

#### 4.1.1 排気温度の検討

排気流速50 mL/min及び100 mL/minにおける排気温度の影響を10～40℃の範囲で検討した。図4には排気流速50 mL/minにおける溶媒排気温度のピーク面積に対する影響について、代表的な農薬の結果を示した。大部分の農薬では、排気温度が10℃のときピーク面積が最も大きく、温度の上昇とともに、ピーク面積の減少が見られた。特に、検討した農薬の中でも揮発性が高いジクロロボスは温度上昇に伴うピーク面積の減少が大きかった。揮発性の高い農薬を保持するためにはより低温が望ましいと思われる。反対にアルジカルブは、他の農薬とは異なりより高温の方がピーク面積が大きかった。これは、アルジカルブは分解物を測定しているため、排気温度が高いほど分解が促進されたためと思われる。この結果は排気流速100 mL/minでも同様であった。以上結果から、溶媒排気温度は、10℃を用いることとした。なお、10℃より低温については、注入口の冷却に時間がかかるほか、冷却用の液化炭酸ガスの消費量が多くなるため検討しなかった。

#### 4.1.2 排気流速の検討

次に溶媒の排気流速について検討した。

すなわち、溶媒排気温度 10 °C における排気流速のピーク面積に対する影響について、流速 10 ~ 90 mL/min の範囲で検討した。図 5 に示したように、大部分の農薬は、10 mL/min でピーク面積が最も小さかった。これは、10 mL/min では溶媒の気化が不十分なため、溶媒が気化せずにライナ内にとどまり、その結果農薬が過剰な溶媒とともにスプリット出口から排出されてしまうためと考えられる。また多くの農薬で、排気流速 50 mL/min 付近でピーク面積が最大となったのち、更に流速を速くすると次第に減少する傾向が見られた。これは排気流速が速すぎると、溶媒が完全に気化して排気されてしまうため、ライナ内に農薬を保持するための溶媒膜を形成することができないためと思われる。また、ピーク面積に対する影響は、農薬により大きな差が見られ、10 mL/min の時の面積に対して、数倍から数十倍となった。一方、アルジカルブは 50 mL/min で面積が最も小さくなった。アルジカルブは分解物を測定していることから、50 mL/min のとき最も分解が抑えられたと考えられる。以上の結果から、溶媒排気流速は 50 mL/min を選択した。

#### 4.1.3 排気時間の検討

注入間隔が 0.11 分あるため、5 回目の注入終了時点で 0.44 分(0.11 分×4)経過している。最後の注入了直後は、溶媒はライナ表面で溶媒膜を形成している。このまま、溶媒排気を継続すると溶媒が消失し揮発性物質を損失する可能性がある。そのため、溶媒排気を終了する適切な時間について検討した。検討は、0.44 分(注入時間)、0.47 分(注入時間 + 1/4 注入間隔)、0.50 分(注入時間 + 1/2 注入間隔)、0.55 分(注入時間 + 1 注入間隔)、0.60 分及び 0.70 分で行った。図 6 には代表的な農薬の結果を示した。その結果、検討した農薬のうち 7 割以上はアセタミプリドと同様に 0.6 mim まで面積変化はほとんどなく、0.7 分で減少した。一部の農薬は、バミドチオンと同様に排気時間の延長とともに面積が減少し、特にジコホールやカプタホールなどでは減少が大きく、面積が半分以下となった。これは、排気時間が長くなるほどライナ内の溶媒膜が減少し、その保持効果が減少するためと思われる。反対にエトプロホスなどのように一部の農薬ではあるが、排気時間とともに面積が増加し、0.5 分から 0.6 分で

最大となるものもあった。特にアルジカルブは排気時間に伴う面積増加が大きく、0.6 分で 2 倍の面積となった。アルジカルブは分解物を測定しているため、ライナ内の溶媒の減少により分解が促進されたものと思われる。

溶媒排気時間を注入時間以上に長く取ることにより面積が増加する農薬はわずかで、その増加率もアルジカルブを除き 20 ~ 30 % 程度であり、大きな利点は見られなかった。一方、ジコホールやカプタホールのように溶媒排気時間が長くなると面積が急激に減少する農薬があることから、最後の注入の終了と同時に溶媒排気を停止する条件を選択した。すなわち、溶媒排気時間は、注入時間と同じ 0.44 分とした。

これまでの検討から、最終的な溶媒排気条件は、排気温度 10 °C、排気流速 50 mL/min 及び排気時間 0.44 分とした。

## 4.2 試料移動条件の検討

予備検討では、暫定的に排気温度 30 °C 及び排気流速 100 mL/min の条件を用いて試料移送条件を求めていたため、4.1 の項で得られた溶媒排気条件を用いて試料移動条件の最適化を行った。農薬標準混液の注入量は同様に 25 µL(5 µL × 5) を用いた。また、実験結果は 2 ~ 3 回の繰り返し注入の平均値を用いた。

### 4.2.1 移動温度の検討

ライナから分析カラムへ農薬を移動する際の移動温度について 200 ~ 400 °C の範囲で検討し、図 7 に代表的な農薬の結果を示した。検討した農薬のうち 7 割以上の農薬では、フルバリネートのように検討した温度範囲内での面積変化は 10% 以内であり、温度の影響はあまり見られなかった。アミトラスは温度の上昇とともに面積が減少した。反対に分解物を測定しているアルジカルブは、高温で面積が増加し 250 °C 以上でほぼ一定となった。アセタミプリドは 300 ~ 400 °C で面積が最大になり、ジコホール、カプタホール及びジクロロボスなどでは、300 ~ 350 °C で面積が最大となった。これらのことから、移動温度は 300 ~ 350 °C であれば十分と思われたが、350 °C 以上ではジクロロボスやトリシクラゾールなどのように面積が減少する農薬が見られたことから、移動温度は 300 °C を選択した。

### 4.2.2 注入口昇温速度の検討

図 8 には昇温速度のピーク面積に対する

影響を 120 °C/min から装置の上限である 720 °C/min の範囲で検討した結果を示した。検討した農薬のうち約 9 割は昇温速度の変化に対する面積変化は 10%以内であり、大きな変化はみられなかった。オキサミルとアルジカルブは、昇温速度の上昇にともなってピーク面積が大きく増加した。また、カプタホールは、昇温速度の増加とともにピーク面積が増加し、キャプタン及びカプタホールの共通の分解生成物である THFI は減少した。今回の検討では、キャプタンの面積変化は見られなかったため、THFI はカプタホール由来と思われる。一方、ジコホールは、昇温速度の上昇にともなってピーク面積が減少し、代わりに分解物である DCBP のピーク面積が増加した。昇温速度については、先にも述べたように遅いほうが農薬が揮発するのに必要な最小限度の温度でカラムに移動することができるため、農薬の分解が抑制されるとする考え方と、反対に瞬間的な加熱の方がより短時間で気化してカラムへ移動するので、熱的な負担を減らすとともに、吸着による分解を減少させる効果があるとする、相反する考え方がある<sup>3)</sup>。今回のカプタホールの結果については、後者の考え方が当てはまると思われる。ジコホールについては、非常に分解しやすく、昇温速度が 220 °C/min からすでにピーク面積が減少し始めており、分解を抑制するためには 120 °C/min 以下にする必要がある。この場合では 300 °C に達するまでに 2 分以上必要になり移動に時間がかかるため、分析カラム内での試料バンド幅が広がることが予想される。一方、急速な昇温では、ジコホールのピーク面積は減少するものの、カプタホールの分解を抑制できるほか、バンド幅をより狭くすることが期待できることから、注入口昇温速度は 720 °C/min を選択した。

#### 4.2.3 移動時間の検討

注入口が移動温度に達してから、ライナから分析カラムへの農薬の移動が完了するまでの時間について 0.5 ~ 4 分の範囲で検討した。図 9 にはその結果を示した。イミベンコナゾール代謝物 1 (2,4-ジクロロアニリン)、ジコホール及びアルジカルブでは、移動時間 1 分で面積の増加が見られた。キャプタン、カプタホール、エチオフェンカルブ、ジクロロボスなどでは移動時間の延長にともないピーク面積が減少する傾向

が見られ、特にジクロロボスでは 2 分以降で 10%以上の面積減少が見られた。その他の農薬については、検討した農薬のうち 9 割以上では、面積変化は 10%以内であり大きな変化は見られなかった。移動時間が短すぎる場合には、農薬の移動が不十分になり、長すぎる場合には試料バンド幅が広がる可能性があるため、今回の検討結果から、試料移動時間は 1 分前後が適切と思われた。注入開始から注入口温度が移動温度の 300 °C に達するまでに 0.84 分かかる。ここで、移動時間を 1.16 分すると、カラムの昇温開始時間が 2 分となる。我々の研究室では、通常のスプリットレス分析を行う際の昇温開始時間を 1 分としているため、大量注入での農薬の保持時間はちょうど 1 分遅くなるだけであり保持時間の確認に都合が良い。よって、試料移動時間は 1.16 分とした。

これまでの検討から、最終的な試料移動条件は、移動温度 300 °C、注入口昇温速度 720 °C/min 及び移動時間 1.16 分とした。更に、表 2 の装置の操作条件で示したように、実試料の分析を想定して、PTV 注入口は試料の移動終了後、ライナ内に残った難揮発性物質を除去するために、焼き出しを行う設定をした。350 °C で 5 分保持すると C<sub>6</sub> アルカンを定量的に移動できる<sup>10)</sup>ことから、効果をより高めるために 400 °C で 10 分焼き出しを行うこととした。その後、次の分析の準備のために、300 °C までライナの温度を下げる設定をした。

#### D. 考察

PTV 注入法を用いた GC 大量注入の過程は、①注入口における農薬と溶媒の分離及び溶媒の排出（溶媒排気）と②農薬の分析カラムへの定量的な移動（試料移動）の 2 段階からなる。第 1 段階に関連するパラメーターとして、溶媒の排気温度、排気流速及び排気時間について、また、第 2 段階に関連するパラメーターとして、移動温度、移動温度に達するまでの注入口昇温速度及び移動時間について、注入溶媒にアセトン：ヘキサン(1:1)を用いて条件の最適化を行った。また、検討には様々な種類の約 130 農薬を用いた。その結果、試験溶液 5 µL の 5 回注入（全量 25 µL）における最適条件として、溶媒の排気温度 10 °C、排気流速 50 mL/min、排気時間 0.44 分、移動温度