

## 4 ガスクロマトグラフ(質量分析計)(GC(-MS))法による堆肥等中の 塩素系農薬の測定

野崎友春<sup>1</sup>

キーワード 有機塩素系農薬, ガスクロマトグラフ分析法

### 1. はじめに

住宅解体時に廃棄される建築廃材や畳わらを肥料として利用する際に、有機塩素系農薬の残留が判明したことから、平成14年に農林水産省生産局長通知で堆肥に使用できる古畳を原料とするわらは塩素系農薬が検出されないことが確認されたものと規定されている(平成14年4月10日付け14生畜第185号農林水産省生産局長通知)。また、平成21年に実施した建築廃材の堆肥化における有害成分の推移の調査では8ヶ月後においても残留していたことを確認している。有機塩素系農薬は過去に殺虫剤、殺鼠剤、殺菌剤又はシロアリ駆除剤等として使用されていた化学物質である。難分解性であり、発がん性があるものがあるため現在は製造、使用禁止のものも多く、また、有機塩素系農薬の一種であるドリソ系農薬がウリ科の植物に吸収され濃縮されることが確認されている。

有機塩素系農薬の分析法としては、飼料分析法<sup>1)</sup>では「有機塩素系及び酸アミド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法」、「農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法」、「有機塩素系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法」がある。また、愛玩動物用飼料等の検査法<sup>2)</sup>として「有機塩素系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法」が、食品の検査法<sup>3)</sup>として「GC/MSによる農薬等の一斉分析法」、「BHC等試験法」が、その他 QuEChERS 法<sup>4)</sup>や STQ 法があるが、肥料中の有機塩素系農薬の分析法が確立されていない。

今回、愛玩動物用飼料等の検査法を参考に、通知で示されている7種類の農薬(BHC, DDT, アルドリン, デルドリン, エンドリン, クロルデン及びヘプタクロル)及び関連物質について肥料中の有機塩素系農薬の測定法を検討したので、その概要を報告する。

### 2. 材料及び方法

#### 1) 供試試料

豚糞堆肥及び松の木くずを粉碎したものをそれぞれ目開き1.0mmのふるいに通し、通過したものをを用いた。

#### 2) 試薬等の調整

- (1) 水: JIS K 0557 に規定する A3 水
- (2) アセトニトリル: 残留農薬分析用
- (3) 塩化ナトリウム: 残留農薬分析用

<sup>1</sup> 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

- (4) ヘキサン:残留農薬分析用
- (5) シクロヘキサン:高速液体クロマトグラフ用
- (6) アセトン:残留農薬分析用
- (7) ジエチルエーテル:残留農薬分析用
- (8) 2,2,4-トリメチルペンタン:高速液体クロマトグラフ用
- (9) 有機塩素系農薬混合標準液(10 µg/mL):アーレンストファー製混合標準液
- (10) 検量線用混合標準液(5 ng/mL~200 ng/mL):有機塩素系農薬混合標準液(10 µg/mL)を2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン(4+1)で順次希釈して、5 ng/mL, 10 ng/mL, 20 ng/mL, 50 ng/mL, 100 ng/mL, 200 ng/mLの濃度の検量線用混合標準液を調製した。

### 3) 装置及び器具

- (1) ガスクロマトグラフ(GC):島津製作所 GC-2010Plus
- (2) ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS):島津製作所 GCMS-QP2010Plus
- (3) 分析カラム:アジレントテクノロジー DB-1701
- (4) 縦型振とう機:タイテック SR-2DW
- (5) ロータリーエバポレーター:ビュッヒ R-200
- (6) ろ過器:桐山製作所 桐山ロート

### 4) 試験操作

#### (1) 抽出

分析試料 5.00 gをはかりとり、共栓三角フラスコ 200 mLに入れ、アセトニトリル-水(3+1)20 mLを加え、10分間静置した。その後アセトニトリル 100 mLを加え、縦型振とう機で30分280往復/分で振とうし、農薬を抽出した。

なす形フラスコ 300 mLを吸引ろ斗の下に置き、抽出液全量をろ紙(No.5B)でろ過した後、残さをアセトニトリル 50 mLで洗浄し、ろ液とあわせた。

抽出液を40℃以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮し、塩化ナトリウム飽和水溶液 20 mLを加えてカラム処理 I に供する試料溶液とした。

#### (2) カラム処理 I

試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム(Agilent製 Chem elut, 20 mL容)に入れ、5分間静置した。300 mLのなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 20 mLずつで3回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下し、定量する各農薬を溶出させた。更に、ヘキサン 60 mLをカラムに加えて同様に流出させ、溶出液を40℃以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮したあと、窒素ガスを送って乾固した。シクロヘキサン-アセトン(4+1)10 mLを正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター(孔径 0.5 mm以下)でろ過し、ゲル浸透クロマトグラフィーに供する試料溶液とした。

#### (3) ゲル浸透クロマトグラフィー

試料溶液 5.0 mLをゲル浸透クロマトグラフに注入し、Table 1の条件で定量する各農薬が溶出する画分を100 mLのなす形フラスコに分取し、40℃以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮したあと、窒素ガスを送って乾固した。

ヘキサン 2 mLを加えて残留物を溶かし、カラム処理 II に供する試料溶液とした。

Table 1 Analytical conditions for GPC

Column	Showadenko Shodex CLNpak EV-2000 AC (20 mm×300 mm, 15 μm)
Guard column	Showadenko Shodex CLNpak EV-G AC (20 mm×100 mm, 15 μm)
Mobile phase	Cyclohexane - Acetone (4+1)
Flow rate	5 mL/min
Fraction	70 mL~120 mL

## (4) カラム処理 II

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (Waters Sep-pak Florisil Plus Long) をヘキサン 5 mL で洗浄した。

50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液をミニカラムに入れ、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 2 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、液面が充填剤の上端に達するまで流下させた。ヘキサソージエチルエーテル (9+1) 15 mL をミニカラムに加えて各農薬を溶出させた。

溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固した。

2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン (4+1) 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフィーに供する試料溶液とした (Scheme 1)。

## (5) 測定

各検量線用混合標準液 1 μL を GC に注入し、Table 2 の GC 条件で測定し、得られたピーク面積又は高さから検量線を作成した。試料溶液 1 μL を GC に注入し、ピーク面積又は高さから検量線により試料溶液中の各農薬の量を求め、分析試料中の濃度を算出した。

また、同様に各検量線用混合標準液 1 μL を GC-MS に注入し、Table 3 の GC-MS 条件で測定し、得られたピーク面積又は高さから検量線を作成した。試料溶液 1 μL を GC-MS に注入し、ピーク面積又は高さから検量線により試料溶液中の各農薬の量を求め、分析試料中の濃度を算出した。

Table 2 Analytical conditions for GC

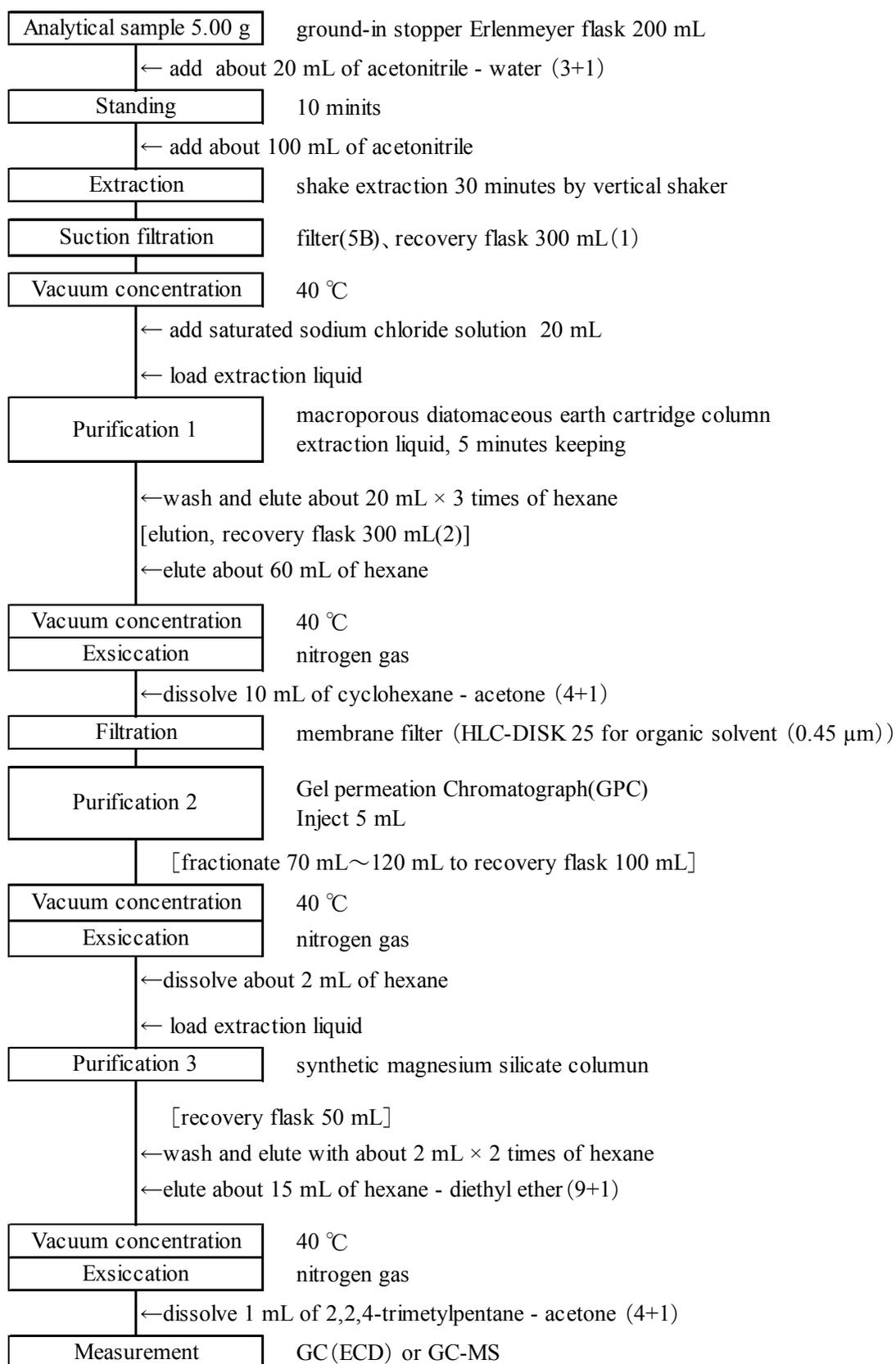
Detector	Electron Capture Detector (ECD)
Column	Agilent DB-1701 (0.25 mm×30 m, 0.25 μm)
Carrier gas	He (1.5 mL/min)
Makeup gas	N <sub>2</sub> (60 mL/min)
Injector	Splitless (1 min)
Injector temp.	250 °C
Column Oven temp.	Initial 60 °C (1 min) → 20 °C/min → 180 °C → 2 °C/min → 260 °C → 5 °C/min → 275 °C (1 min)
Detector temp.	280 °C

Table 3 Analytical conditions for GC/MS

Ionization mode	EI
Electron energy	70 eV
Monitor ion	Show table 4
Column	Restek Rtx-5MS (0.25 mm×30 m, 0.25 μm)
Carrier gas	He (1.0 mL/min)
Injector	Splitless (1 min)
Injector temp.	250 °C
Column Oven temp.	Initial 70 °C (1 min) →25 °C /min→150 °C→3 °C /min →200 °C→8 °C/min→280 °C (10 min)
Interface temp.	230 °C
Detector temp.	250 °C

Table 4 Monitoring ion

Compound name	Quantitation Confirmation		Compound name	Quantitation Confirmation	
	( <i>m/z</i> )	( <i>m/z</i> )		( <i>m/z</i> )	( <i>m/z</i> )
$\alpha$ -BHC	181	219	<i>trans</i> -Chlordane	373	375
$\beta$ -BHC	219	217	<i>cis</i> -Chlordane	373	375
$\gamma$ -BHC	219	217	<i>trans</i> -Nonachlor	406	408
$\delta$ -BHC	217	219	<i>cis</i> -Nonachlor	406	408
HCB	284	286	Dieldrin	263	277
Heptachlor	272	237	Endrin	263	265
Ardrin	263	293	<i>o,p'</i> -DDE	246	318
Oxychlordane	387	389	<i>p,p'</i> -DDE	246	318
Heptachlor epoxide (1)	353	355	<i>o,p'</i> -DDD	235	237
Heptachlor epoxide (2)	353	355	<i>p,p'</i> -DDD	235	237
			<i>o,p'</i> -DDT	235	165
			<i>p,p'</i> -DDT	235	237



Scheme 1 Flow sheet for organochlorine pesticide

### 3. 結果及び考察

#### 1) 測定条件の検討

分析用試料として豚糞堆肥及び松の木くずを本法に従って分析をおこなったところ、一部の農薬について夾雑ピークが認められたが、他の農薬には夾雑ピークがなかったことから、検討を進めることとした。

有機塩素系農薬混合標準液(100 ng/mL 相当量)のガスクロマトグラムを Fig. 1 に示した。

5 ng/mL~200 ng/mL の検量線用混合標準液を作成し、本法に従って検量線を作成した。その結果、5 ng/mL~200 ng/mL の範囲で直線性のある検量線が得られた(Fig. 2)。

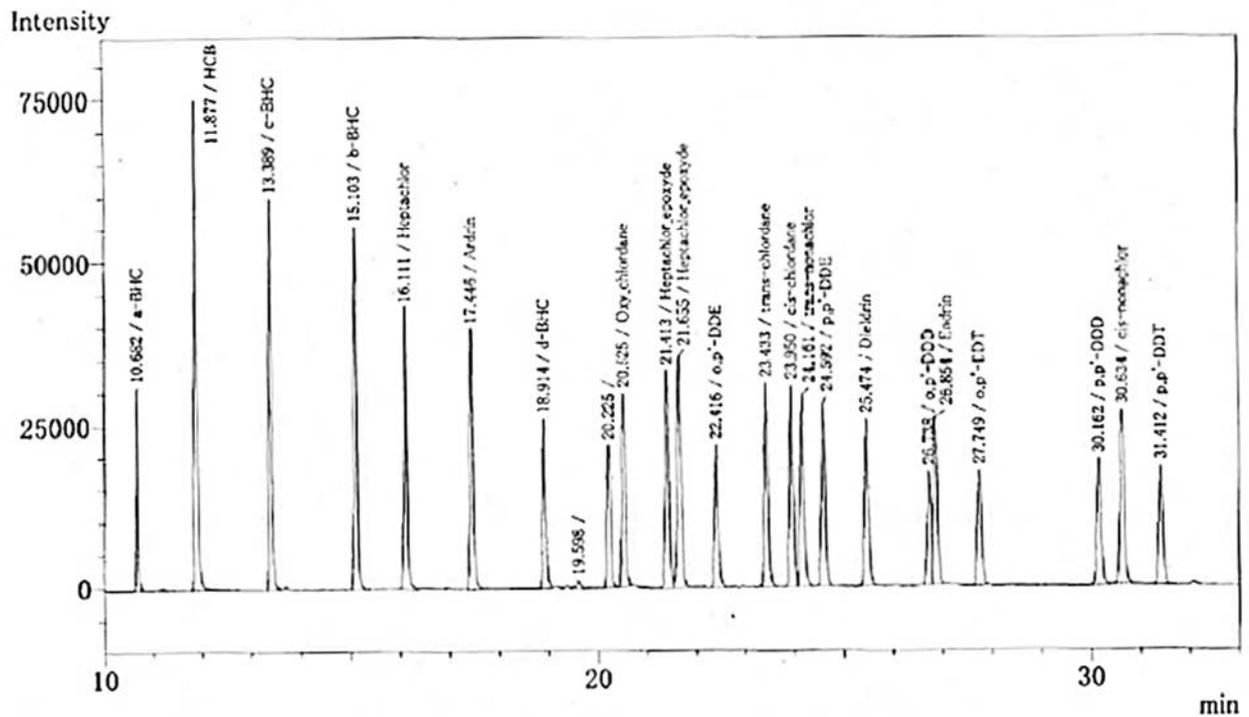


Fig. 1 GC chromatogram of organic chloride pesticide standards

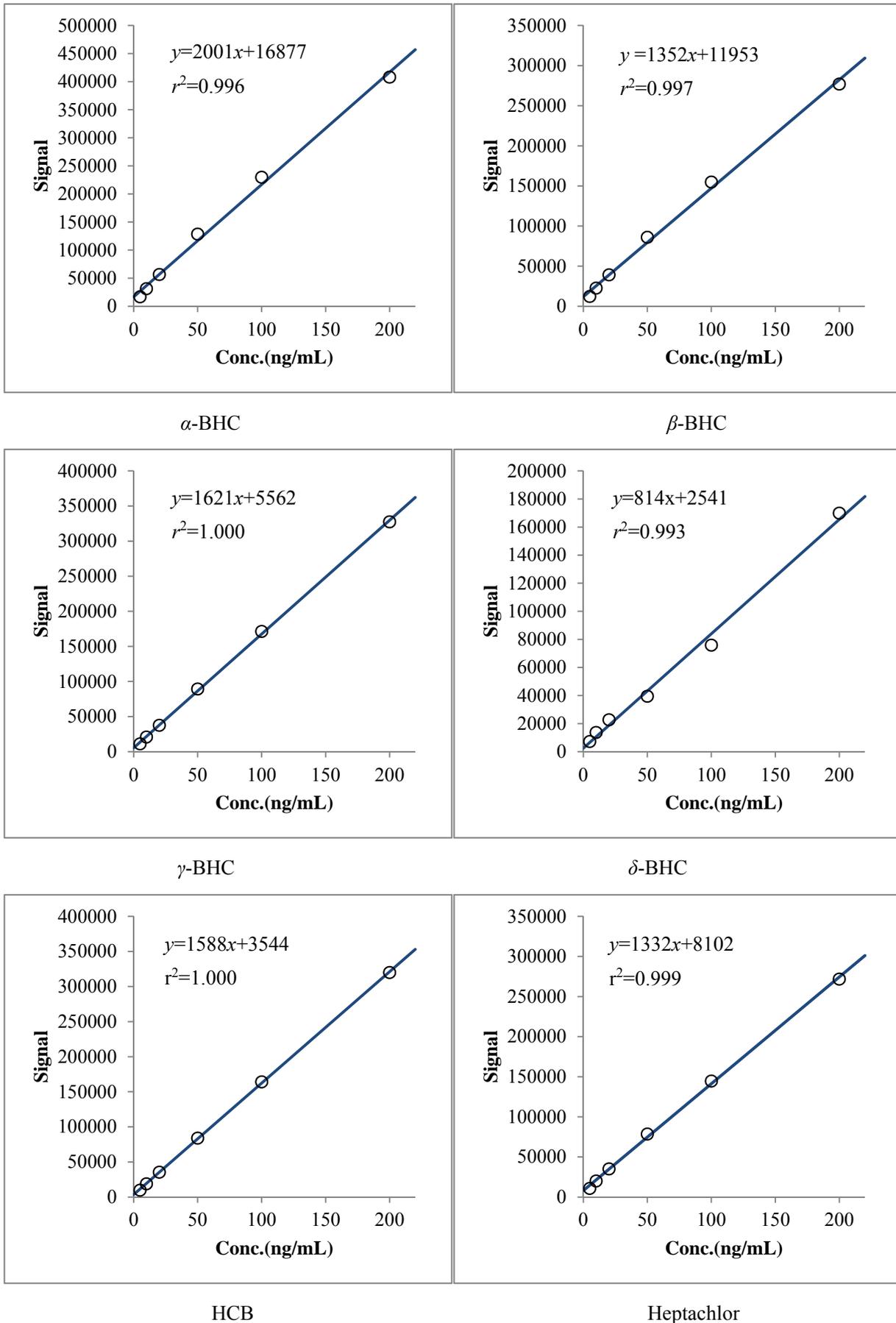
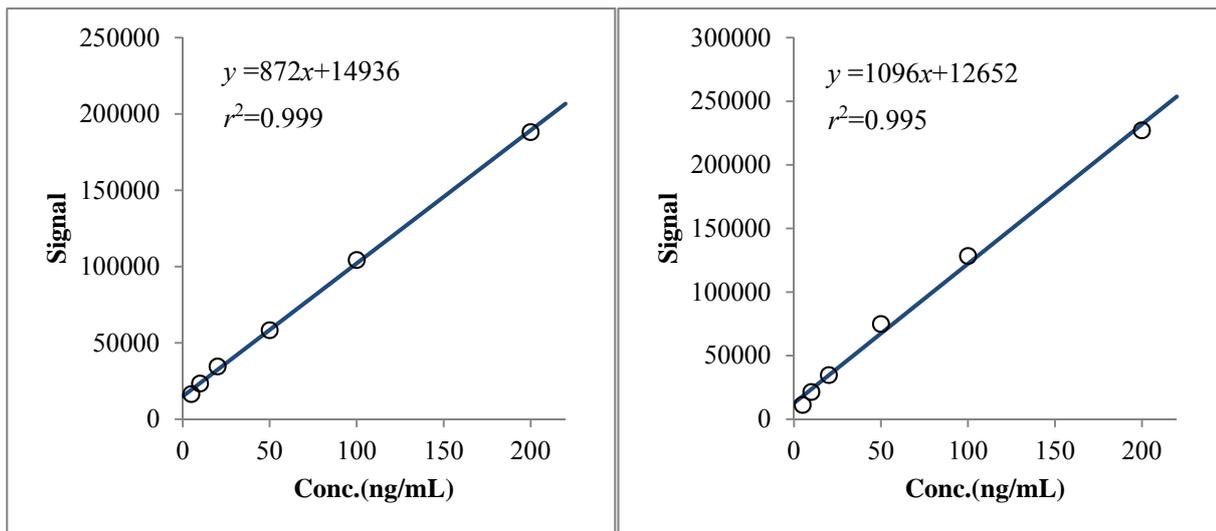
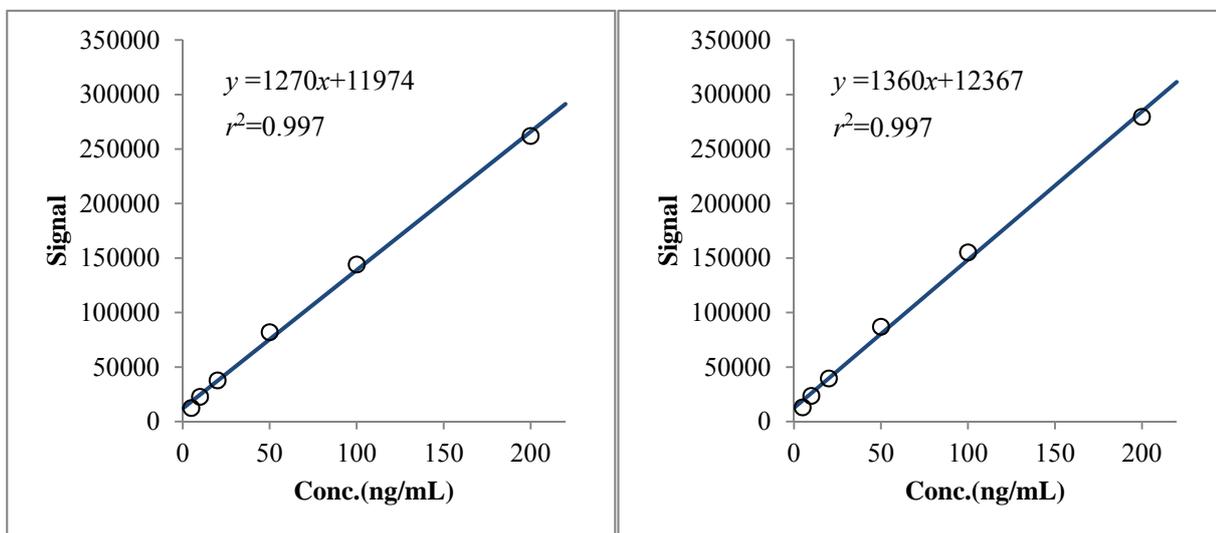


Fig. 2 Calibration curves of organic chloride pesticides (1)



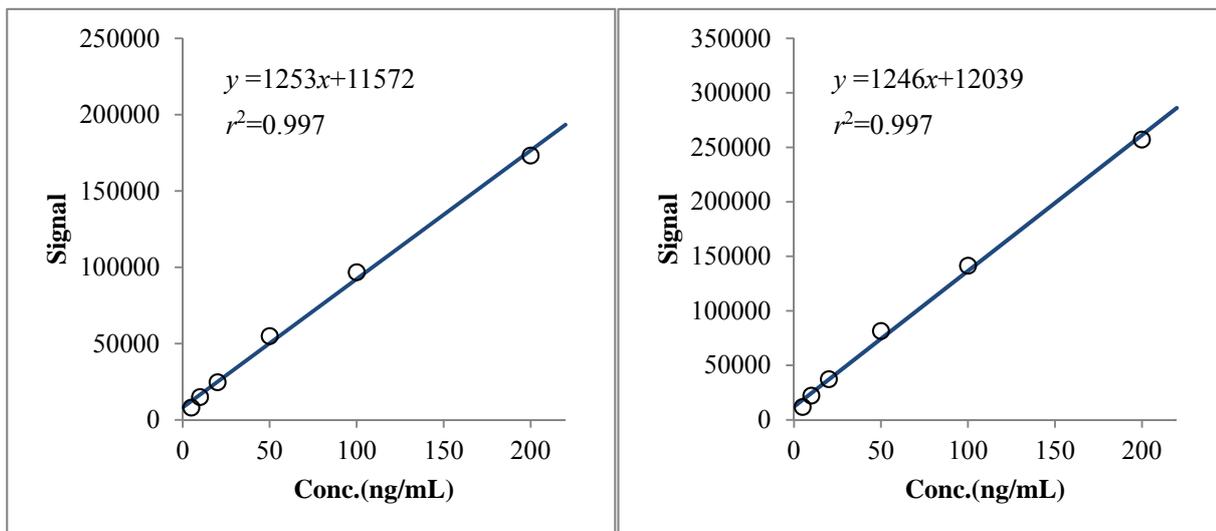
Ardrin

Oxychlorthane



Heptachlor epoxide (1)

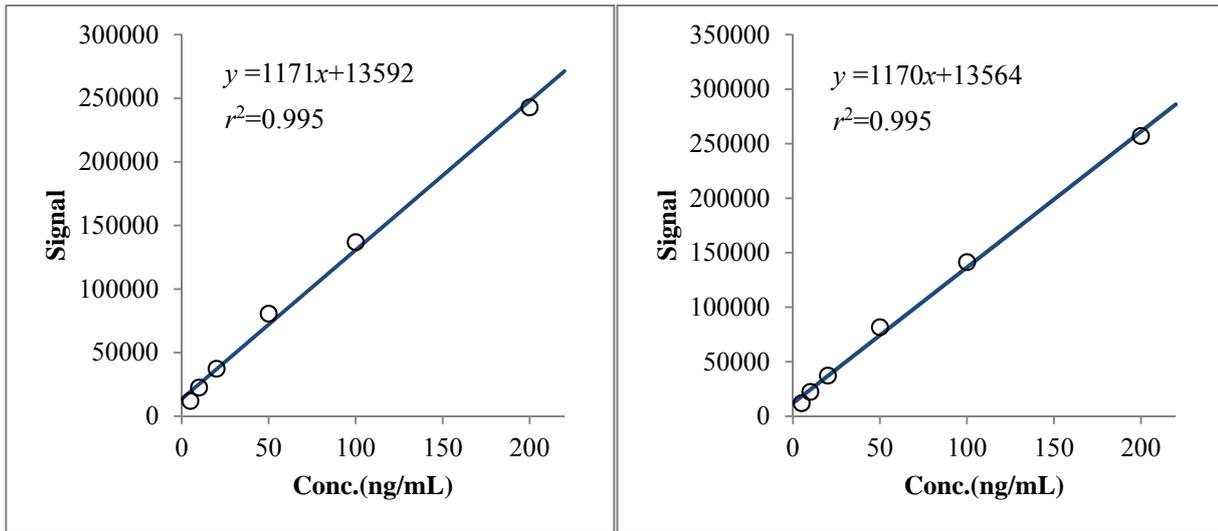
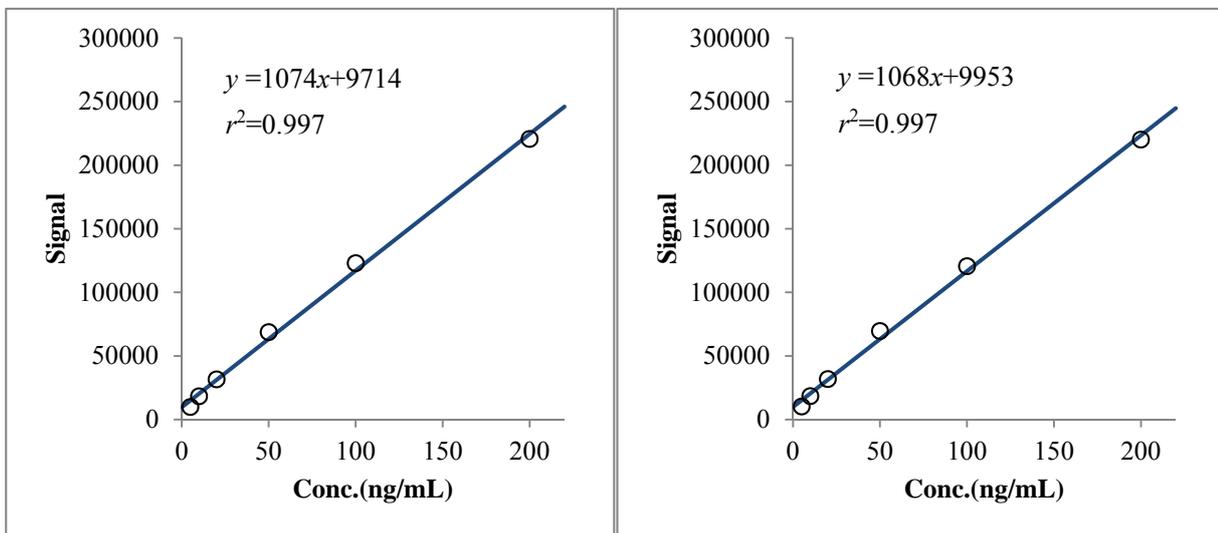
Heptachlor epoxide (2)



*trans*-Chlordane

*cis*-Chlordane

Fig. 2 Calibration curves of organic chloride pesticides (2)

*trans*-Nonachlor*cis*-Nonachlor

Dieldrin

Endrin

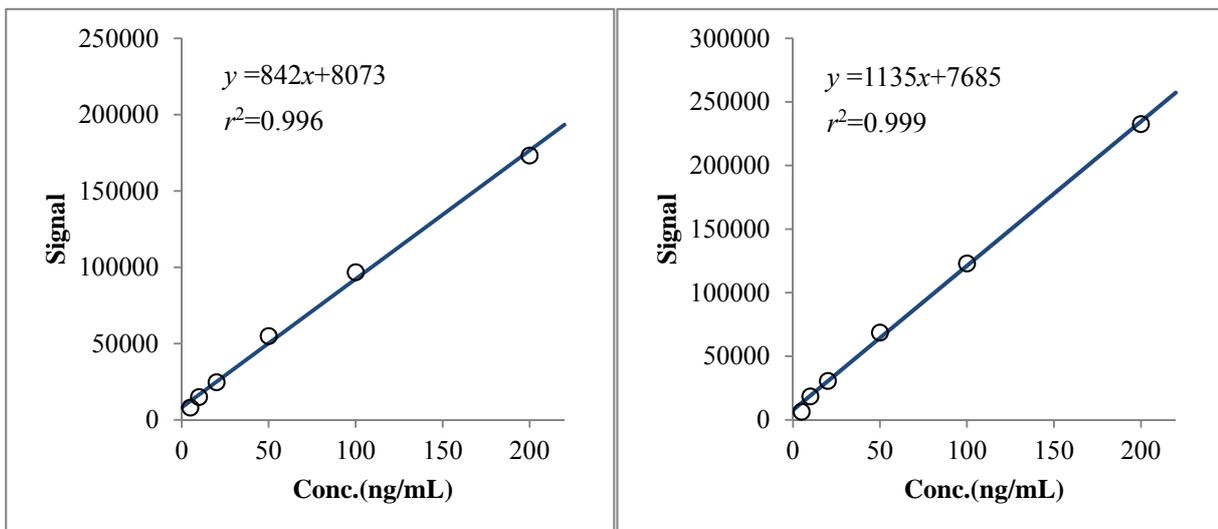
*o,p'*-DDE*p,p'*-DDE

Fig. 2 Calibration curves of organic chloride pesticides (3)

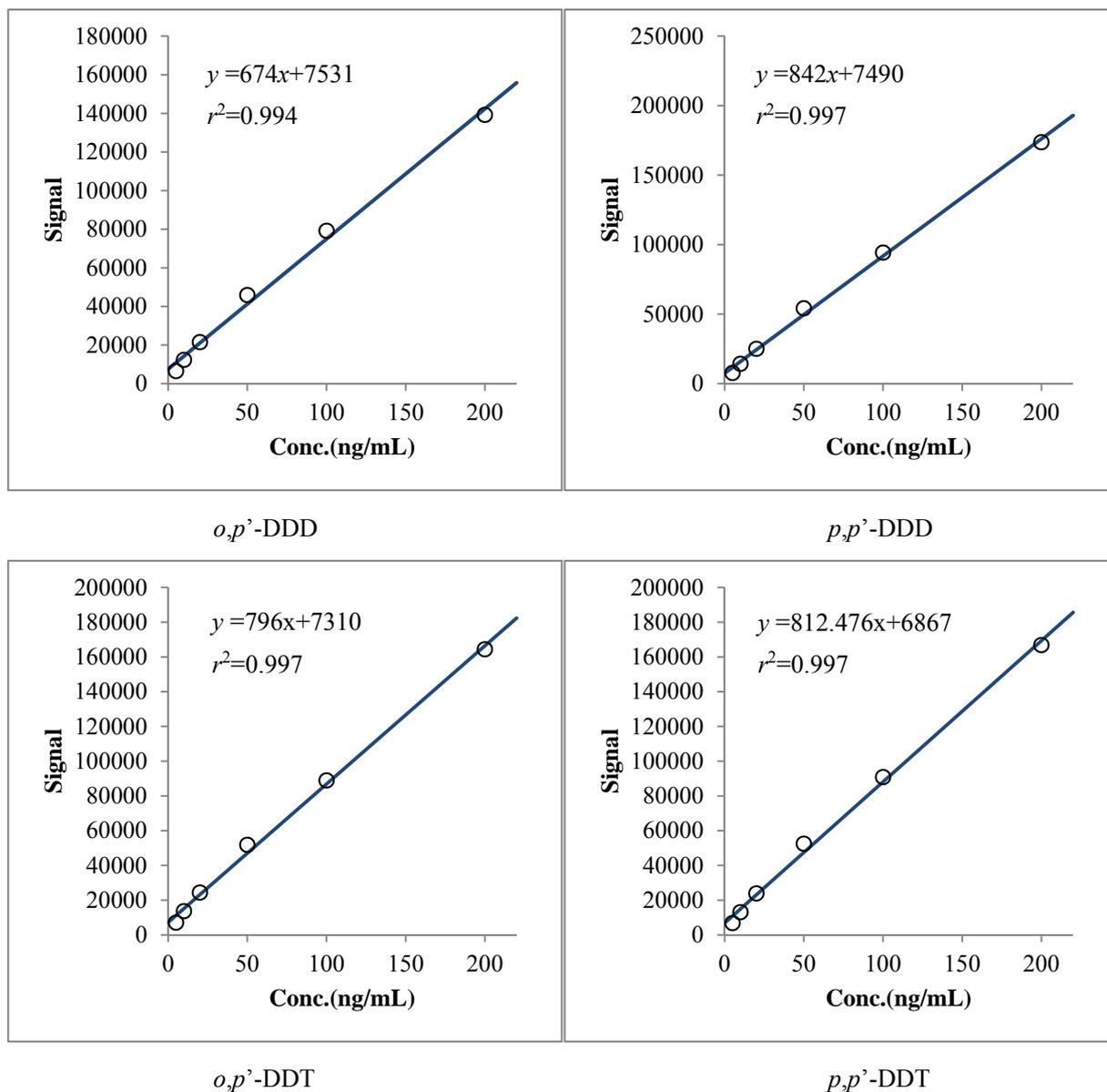


Fig. 2 Calibration curves of organic chloride pesticides (4)

## 2) 添加回収試験

豚糞堆肥及び松の木にそれぞれ 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量, また別堆肥に 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量, 松の木に 80  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量を添加し, 3 点併行で添加回収試験を実施した. 結果を Table 5 に示した. 回収率は 0%~1660.4%であった. GC-ECD で, 妨害ピークのため測定値が不良となったのは, 堆肥中の 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量  $\delta$ -BHC 及びオキシンク ロルデン並びに松の木中のアルドリン及び  $o,p'$ -DDE であった. また, 松の木中の 80  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量添加は全体的に低回収率であった. それらを除いた堆肥中の有機塩素系農薬の回収率は 62.5%~118%,  $RSD$  は 7.7% 以下, 松の木の 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量の有機塩素系農薬の回収率は 35.6%~109%,  $RSD$  は 16.1% 以下であった. なお, GC-MS で測定した結果は, 全体的に回収率にばらつきがあった.

このことから, 以下の検討は GC-ECD を用いることとした. GC-MS は, 有機塩素系農薬の定量性に劣る結果であったが, 選択性が優れているので有機塩素系農薬の存在の確認に用いることとした.

Table 5 Recovery and precision data (1)

Pesticide	Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	GC-ECD		GC-MS		Target range of recovery <sup>d)</sup> (%)	
		Mean <sup>a(b)</sup>	RSD <sup>c)</sup>	Mean <sup>a(b)</sup>	RSD <sup>c)</sup>		
		(%)	(%)	(%)	(%)		
$\alpha$ -BHC	Compost	20	63.4	6.6	225.7	47.9	70~120
		50	67.2	2.2	18.0	2.4	70~120
	Pine chips	20	88.3	12.3	125.5	24.9	70~120
		80	40.8	8.7	8.9	1.9	70~120
$\beta$ -BHC	Compost	20	83.8	1.1	98.9	8.0	70~120
		50	79.3	5.0	93.5	4.0	70~120
	Pine chips	20	99.7	10.9	26.5	7.6	70~120
		80	41.9	9.0	38.6	11.9	70~120
$\gamma$ -BHC	Compost	20	82.1	4.1	138.3	13.6	70~120
		50	74.3	4.2	110.3	6.0	70~120
	Pine chips	20	67.8	4.8	72.1	3.3	70~120
		80	28.2	6.2	25.4	6.6	70~120
$\delta$ -BHC	Compost	20	244.4	1.7	133.1	34.5	70~120
		50	115.9	5.4	101.9	3.3	70~120
	Pine chips	20	35.6	4.1	38.4	12.5	70~120
		80	29.8	10.3	40.7	12.1	70~120
HCB	Compost	20	83.9	2.3	75.4	10.3	70~120
		50	66.9	3.6	67.1	7.7	70~120
	Pine chips	20	60.7	8.7	28.6	4.4	70~120
		80	28.1	6.2	25.8	6.7	70~120
Heptachlor	Compost	20	110.8	2.2	134.0	17.2	70~120
		50	62.5	1.0	116.1	6.0	70~120
	Pine chips	20	96.7	11.7	64.4	11.8	70~120
		80	39.4	8.7	40.8	10.9	70~120
Ardrin	Compost	20	86.2	2.4	98.4	5.0	70~120
		50	120.2	8.9	76.5	5.4	70~120
	Pine chips	20	0.0	0.0	50.6	2.8	70~120
		80	56.5	6.3	52.3	16.3	70~120
Oxychlorane	Compost	20	185.6	9.0	155.0	12.1	70~120
		50	115.4	6.8	114.3	9.3	70~120
	Pine chips	20	96.6	11.8	37.4	20.1	70~120
		80	41.3	9.0	31.5	10.1	70~120
Heptachlor epoxide (1)	Compost	20	117.3	3.2	156.9	13.7	70~120
		50	83.5	4.7	126.0	9.7	70~120
	Pine chips	20	97.2	12.0	63.2	0.5	70~120
		80	39.7	8.0	48.3	17.8	70~120

a)  $n=3$ 

b) Results which were out of recovery target range were written cell of half-tone dot meshing.

c) Relative standard deviation

d) Criteria of the trueness (recovery) required by Testing Methods for Fertilizer (2016)

Table 5 Continue

Pesticide	Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	GC-ECD		GC-MS		Target range of recovery <sup>d)</sup> (%)	
		Mean <sup>a)b)</sup>	RSD <sup>c)</sup>	Mean <sup>a)b)</sup>	RSD <sup>c)</sup>		
		(%)	(%)	(%)	(%)		
Heptachlor epoxide (2)	Compost	20	118.3	1.8	119.6	13.2	70~120
		50	84.5	5.0	122.1	13.5	70~120
	Pine chips	20	97.9	11.6	33.1	29.3	70~120
		80	38.0	7.8	37.2	11.9	70~120
<i>trans</i> -Chlordane	Compost	20	113.1	0.9	149.1	10.3	70~120
		50	81.5	4.4	134.5	11.5	70~120
	Pine chips	20	95.9	11.1	69.2	3.4	70~120
		80	38.5	8.4	47.6	15.7	70~120
<i>cis</i> -Chlordane	Compost	20	113.6	1.4	142.7	11.8	70~120
		50	82.6	5.1	132.0	12.7	70~120
	Pine chips	20	90.7	8.6	67.0	3.7	70~120
		80	34.7	6.1	50.4	16.8	70~120
<i>trans</i> -Nonachlor	Compost	20	108.6	1.1	198.8	20.4	70~120
		50	74.3	5.4	76.7	10.3	70~120
	Pine chips	20	76.6	7.3	89.2	19.8	70~120
		80	37.0	7.2	71.4	18.2	70~120
<i>cis</i> -Nonachlor	Compost	20	116.5	4.4	178.6	12.0	70~120
		50	78.2	4.7	80.4	7.7	70~120
	Pine chips	20	88.9	7.8	105.4	10.1	70~120
		80	37.8	7.8	86.3	27.3	70~120
Dieldrin	Compost	20	110.4	1.3	148.9	6.5	70~120
		50	80.4	4.4	133.6	12.0	70~120
	Pine chips	20	99.9	10.1	55.9	3.6	70~120
		80	38.0	8.5	46.7	14.6	70~120
Endrin	Compost	20	118.1	1.4	154.7	14.1	70~120
		50	86.2	5.2	136.0	14.7	70~120
	Pine chips	20	84.8	4.5	50.2	7.8	70~120
		80	36.4	6.7	50.0	8.8	70~120
<i>o,p'</i> -DDE	Compost	20	113.2	2.3	182.4	6.2	70~120
		50	89.4	6.8	135.8	12.5	70~120
	Pine chips	20	1660.4	85.3	90.0	5.0	70~120
		80	-	-	69.2	18.2	70~120
<i>p,p'</i> -DDE	Compost	20	110.4	4.0	153.7	3.9	70~120
		50	78.9	5.4	130.8	10.2	70~120
	Pine chips	20	109.1	16.1	78.8	2.3	70~120
		80	41.7	8.2	63.4	17.3	70~120
<i>o,p'</i> -DDD	Compost	20	118.1	1.2	174.0	11.2	70~120
		50	87.4	3.8	144.1	13.8	70~120
	Pine chips	20	90.9	5.9	94.0	4.4	70~120
		80	42.3	7.3	72.6	20.3	70~120

Table 5 Continue

Pesticide	Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	GC-ECD		GC-MS		Target range of recovery <sup>d)</sup> (%)	
		Mean <sup>a)b)</sup> (%)	RSD <sup>c)</sup> (%)	Mean <sup>a)b)</sup> (%)	RSD <sup>c)</sup> (%)		
<i>p,p'</i> -DDD	Compost	20	106.1	3.4	183.4	11.3	70~120
		50	75.3	4.5	141.9	11.8	70~120
	Pine chips	20	94.6	12.3	88.6	0.5	70~120
		80	38.8	7.5	62.5	17.5	70~120
<i>o,p'</i> -DDT	Compost	20	115.8	2.0	248.4	18.9	70~120
		50	81.6	5.4	173.8	16.6	70~120
	Pine chips	20	64.1	4.3	129.9	10.9	70~120
		80	35.3	7.9	100.3	29.9	70~120
<i>p,p'</i> -DDT	Compost	20	104.1	2.1	176.2	8.5	70~120
		50	77.3	5.9	135.6	12.5	70~120
	Pine chips	20	93.3	7.1	106.5	3.3	70~120
		80	43.8	10.3	73.5	26.7	70~120

### 3) 併行精度及び中間精度の評価

併行精度及び中間精度を確認するため、豚糞堆肥と松の木くずに有機塩素系農薬がそれぞれ 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量となるよう標準液を添加した試料を用い、それぞれ 2 点併行で日を変えて GC-ECD を用いて 5 回試験を実施して得られた結果を Table 6-1 及び Table 6-2 に示した。また、これらの結果から一元配置の分散分析を行って得られた併行精度及び中間精度を Table 7-1 及び Table 7-2 に示した。

豚糞堆肥の各農薬の平均値は 4.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  であったが、そのうち、 $\alpha$ -BHC、 $\delta$ -BHC 及びオキソクロルデン以外の平均値は、12.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~18.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  であった。また、それらの農薬の併行相対標準偏差は 14.4 % 以下、中間相対標準偏差は 26.4 % 以下であった。また、松の木くずはアルドリン以外の有機塩素系農薬の回収率が 12 %~42 % であり、また、アルドリンの回収率が 157 % であった。また、併行相対標準偏差は 30 % 以下、中間相対標準偏差は 26.4 % 以下であった。

Table 6-1 Repeatability test results on different days (swine manure) ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

Pesticide	Test day (factor)				
	1	2	3	4	5
$\alpha$ -BHC	3.3	4.4	4.5	5.8	4.3
	3.6	3.2	3.6	4.7	3.9
$\beta$ -BHC	13.3	17.8	16.2	16.8	16.7
	14.2	15.5	13.5	17.7	14.9
$\gamma$ -BHC	12.7	17.1	15.2	15.8	15.8
	13.5	14.3	13.1	15.7	14.1
$\delta$ -BHC	34.9	75.3	46.6	57.4	39.6
	33.8	42.4	59.4	59.4	51.6
HCB	13.0	17.7	16.0	17.4	15.5
	13.7	15.0	13.3	18.2	13.5
Heptachlor	13.9	18.2	17.6	18.9	17.8
	15.1	16.6	15.0	19.4	16.4
Ardrin	10.7	15.6	14.2	15.0	10.0
	11.7	13.0	13.4	15.7	9.0
Oxychlordane	29.8	31.4	36.3	34.3	33.3
	32.6	30.0	28.9	37.1	30.3
Heptachlor epoxide (1)	15.3	18.7	20.2	18.8	19.1
	17.0	16.4	15.3	19.9	16.9
Heptachlor epoxide (2)	15.5	18.8	19.9	19.7	19.1
	17.1	16.8	15.3	20.0	17.1
<i>trans</i> -Chlordane	14.7	18.8	19.8	18.9	18.1
	16.5	16.7	15.3	19.9	17.3
<i>cis</i> -Chlordane	14.8	19.3	19.0	18.7	18.9
	16.3	17.7	15.9	19.9	17.8
<i>trans</i> -Nonachlor	13.1	17.7	16.4	16.7	16.2
	15.9	16.2	13.7	17.0	15.8
<i>cis</i> -Nonachlor	14.1	17.5	17.7	18.4	16.8
	16.3	16.0	14.3	19.8	15.9
Dieldrin	13.8	17.8	17.9	18.0	17.5
	15.5	15.6	14.7	19.1	16.5
Endrin	16.4	18.3	19.1	19.2	18.2
	17.2	16.2	15.7	20.5	17.1
<i>o,p'</i> -DDE	16.0	19.5	25.0	20.3	17.9
	17.9	16.3	17.5	19.9	16.3
<i>p,p'</i> -DDE	13.6	17.9	18.5	17.4	18.3
	15.8	16.0	14.6	18.7	16.8
<i>o,p'</i> -DDD	15.6	17.5	18.0	17.9	16.9
	17.2	15.5	15.6	19.3	15.9
<i>p,p'</i> -DDD	13.4	16.8	18.2	17.8	17.1
	16.2	15.3	14.1	18.7	15.4
<i>o,p'</i> -DDT	15.3	19.2	18.4	19.6	18.8
	17.0	16.9	15.6	20.7	17.4
<i>p,p'</i> -DDT	13.8	17.0	18.2	18.0	17.6
	15.4	15.3	15.2	19.6	16.3

Table 6-2 Repeatability test results on different days (pine chips) ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

Pesticide	Test day (factor)				
	1	2	3	4	5
$\alpha$ -BHC	6.3	8.8	7.0	9.5	8.1
	6.8	11.2	4.2	8.0	5.3
$\beta$ -BHC	5.6	10.9	7.6	10.3	7.5
	7.3	13.3	5.8	8.7	5.5
$\gamma$ -BHC	4.1	8.1	5.8	7.7	5.8
	5.1	10.2	3.5	6.1	4.1
$\delta$ -BHC	2.7	13.4	7.4	10.8	8.9
	8.8	13.8	6.0	8.0	4.6
HCB	4.8	8.2	6.0	8.4	6.3
	5.7	10.5	3.7	6.5	4.4
Heptachlor	4.7	10.0	7.3	10.1	7.4
	7.3	12.0	5.0	8.1	5.0
Ardrin	21.1	40.2	38.0	35.8	29.8
	29.9	51.6	18.3	34.1	15.6
Oxychlordane	4.1	8.7	7.0	8.7	7.2
	4.0	9.9	7.1	7.1	4.9
Heptachlor epoxide (1)	5.0	7.9	6.4	9.2	6.6
	5.9	10.8	6.2	6.6	4.1
Heptachlor epoxide (2)	4.4	7.8	6.1	8.8	6.8
	5.6	10.5	6.1	6.8	4.2
<i>trans</i> -Chlordane	3.9	8.2	6.5	8.4	5.4
	5.4	10.3	6.9	6.8	4.5
<i>cis</i> -Chlordane	3.4	8.0	5.5	7.4	4.8
	4.2	9.2	6.0	6.0	3.4
<i>trans</i> -Nonachlor	3.0	7.8	4.7	7.0	4.1
	3.9	9.0	6.4	5.6	3.7
<i>cis</i> -Nonachlor	3.4	7.7	6.2	7.4	4.5
	5.8	9.7	7.5	5.4	2.8
Dieldrin	4.9	9.5	7.1	9.8	6.1
	7.5	12.0	6.2	7.5	4.8
Endrin	3.3	7.8	5.2	7.0	5.7
	5.8	8.9	5.3	5.5	3.4
<i>o p'</i> -DDE	Not quantitative for obstruction peak				
<i>p p'</i> -DDE	5.0	8.8	7.2	9.1	6.9
	6.4	9.8	7.8	7.5	6.1
<i>o p'</i> -DDD	5.0	8.3	6.9	9.3	6.7
	8.1	10.6	8.1	7.1	4.8
<i>p p'</i> -DDD	5.2	8.0	7.5	9.0	7.2
	7.9	11.1	8.1	7.1	5.3
<i>o p'</i> -DDT	3.4	6.8	6.4	8.3	5.7
	4.8	9.0	6.1	6.0	2.9
<i>p p'</i> -DDT	5.3	5.1	8.7	9.4	6.6
	8.3	11.8	9.3	7.6	6.4

Table 7-1 Repeatability and intermediate precision (swine manure) (μg/kg)

Pesticide	mean <sup>a)</sup> (μg/kg)	Repeatability			Intermediate precision		
		$s_r$ <sup>b)</sup> (μg/kg)	$RSD_r$ <sup>c)</sup> (%)	$CRSD_r$ <sup>d)</sup> (%)	$s_{I(T)}$ <sup>e)</sup> (μg/kg)	$RSD_{I(T)}$ <sup>f)</sup> (%)	$CRSD_{I(T)}$ <sup>g)</sup> (%)
$\alpha$ -BHC	4.1	0.6	14.9	11	1.0	23.9	18
$\beta$ -BHC	15.7	1.3	8.3	11	2.0	12.8	18
$\gamma$ -BHC	14.7	1.3	8.6	11	1.6	10.9	18
$\delta$ -BHC	50	11.8	23.6	11	14.5	29.1	18
HCB	15.3	1.4	9.3	11	2.5	16	18
Heptachlor	16.9	1.1	6.7	11	2.4	14.3	18
Ardrin	12.8	1.0	7.8	11	3.4	26.4	18
Oxychlorthane	32.4	2.8	8.7	11	2.8	8.6	18
Heptachlor epoxide (1)	17.8	2.0	11.1	11	1.6	9	18
Heptachlor epoxide (2)	17.9	1.8	10.1	11	1.8	10	18
<i>trans</i> -Chlordane	17.6	1.7	9.9	11	1.9	10.8	18
<i>cis</i> -Chlordane	17.8	1.3	7.2	11	2.0	11.3	18
<i>trans</i> -Nonachlor	15.9	1.3	8.3	11	1.5	9.6	18
<i>cis</i> -Nonachlor	16.7	1.5	8.8	11	2.1	12.4	18
Dieldrin	16.6	1.4	8.5	11	2.0	11.9	18
Endrin	17.8	1.4	7.9	11	1.7	9.5	18
<i>o,p'</i> -DDE	18.7	2.7	14.4	11	2.7	14.6	18
<i>p,p'</i> -DDE	16.8	1.6	9.8	11	1.8	10.9	18
<i>o,p'</i> -DDD	16.9	1.2	7.3	11	1.3	7.8	18
<i>p,p'</i> -DDD	16.3	1.7	10.7	11	1.8	10.9	18
<i>o,p'</i> -DDT	17.9	1.4	7.8	11	2.2	12	18
<i>p,p'</i> -DDT	16.6	1.4	8.1	11	2.2	13	18

a)  $n=14$  (duplication  $\times 7$  days)

b) Repeatability standard deviation

c) Repeatability relative standard deviation

d) Criteria of repeatability relative standard deviation required by Testing Methods for Fertilizer (2016)

e) Intermediate standard deviation

f) Intermediate relative standard deviation

g) Criteria of intermediate relative standard deviation required by Testing Methods for Fertilizer (2016)

Table 7-2 Repeatability and intermediate precision (pine chips) (µg/kg)

Pesticide	mean <sup>a)</sup> (µg/kg)	Repeatability			Intermediate precision			
		$s_r$ <sup>b)</sup> (µg/kg)	$RSD_r$ <sup>c)</sup> (%)	$CRSD_r$ <sup>d)</sup> (%)	$s_{I(T)}$ <sup>e)</sup> (µg/kg)	$RSD_{I(T)}$ <sup>f)</sup> (%)	$CRSD_{I(T)}$ <sup>g)</sup> (%)	
$\alpha$ -BHC	7.5	1.5	20.5	11	2.6	34	18	
$\beta$ -BHC	8.2	1.4	16.5	11	3.5	42.8	18	
$\gamma$ -BHC	6.1	1.3	20.7	11	2.8	46	18	
$\delta$ -BHC	8.4	2.6	30.2	11	4.5	53.3	18	
HCB	6.4	1.4	21.4	11	2.7	42.1	18	
Heptachlor	7.7	1.6	20.7	11	3.2	41.6	18	
Ardrin	31.4	9.0	28.5	11	13.1	41.7	18	
Oxychlorane	6.9	1.0	14.2	11	2.8	40.6	18	
Heptachlor epoxide (1)	6.9	1.5	21.4	11	2.5	35.7	18	
Heptachlor epoxide (2)	6.7	1.4	21	11	2.5	36.6	18	
<i>trans</i> -Chlordane	6.6	1.0	15.3	11	2.7	40.8	18	
<i>cis</i> -Chlordane	5.8	0.8	13.8	11	2.8	48.4	18	
<i>trans</i> -Nonachlor	5.5	0.8	15.1	11	2.8	51.3	18	
<i>cis</i> -Nonachlor	6	1.4	22.4	11	2.8	46.6	18	
Dieldrin	7.5	1.4	19	11	3.1	40.5	18	
Endrin	5.8	1.2	21	11	2.3	38.8	18	
<i>o,p'</i> -DDE			Not quantitative for obstruction peak					
<i>p,p'</i> -DDE	7.5	0.8	10.9	11	2.8	51.3	18	
<i>o,p'</i> -DDD	7.5	1.6	21	11	2.0	27.1	18	
<i>p,p'</i> -DDD	7.6	1.6	20.4	11	1.9	24.4	18	
<i>o,p'</i> -DDT	6	1.4	23.6	11	2.4	40.1	18	
<i>p,p'</i> -DDT	7.9	2.4	30.4	11	1.6	20	18	

a) ~ g) Refer of the footnote of Table 7-1

#### 4) 定量下限の確認

豚糞堆肥 1 種類を用いた有機塩素系農薬の GC-ECD による定量下限確認結果を Table 8 に示した。豚糞堆肥に有機塩素系農薬としてそれぞれ 20 µg/kg 相当量を添加して GC-ECD を用いて 7 点併行試験を実施したところ、本法の定量下限は 10 µg/kg ~ 20 µg/kg 程度と推定された。また、本法の検出下限は 3 µg/kg ~ 7 µg/kg と推定された。

Table 8 Calculated *LOQ* and *LOD* values

Pesticide	Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	mean <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	<i>Sr</i> <sup>b)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	<i>LOQ</i> <sup>c)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	<i>LOD</i> <sup>d)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
$\alpha$ -BHC	20	11.7	1.0	10	4
$\beta$ -BHC	20	13.7	0.8	8	3
$\gamma$ -BHC	20	11.9	0.8	8	3
$\delta$ -BHC	20	38.0	1.4	14	6
HCB	20	15.2	0.9	9	3
Heptachlor	20	18.7	0.9	10	4
Ardrin	20	12.3	1.4	14	5
Oxychlordane	20	31.5	1.7	17	7
Heptachlor epoxide (1)	20	19.9	1.2	12	5
Heptachlor epoxide (2)	20	19.8	1.1	11	4
<i>trans</i> -Chlordane	20	19.0	0.8	8	3
<i>cis</i> -Chlordane	20	18.7	1.0	10	4
<i>trans</i> -Nonachlor	20	19.3	0.9	9	3
<i>cis</i> -Nonachlor	20	20.1	1.1	11	4
Dieldrin	20	19.8	1.1	11	4
Endrin	20	20.5	0.8	8	3
<i>o,p'</i> -DDE	20	20.2	1.1	11	4
<i>p,p'</i> -DDE	20	18.9	1.0	10	4
<i>o,p'</i> -DDD	20	20.2	0.8	8	3
<i>p,p'</i> -DDD	20	18.4	1.5	15	6
<i>o,p'</i> -DDT	20	20.5	0.8	8	3
<i>p,p'</i> -DDT	20	18.2	0.9	10	4

a)  $n=7$ 

b) Standard deviation

c) Standard deviation $\times 10$ d) Standard deviation $\times 2 \times t(n-1, 0.05)$ 

## 5) 流通肥料の分析

堆肥 2 種類, 建築廃材 1 種類及び松の木くず 1 種類を GC-ECD を用いて測定し, GC-MS を用いて確認した. GC-ECD で夾雑ピークにより定量に影響を受けた成分を表 9 に示した. GC-MS で検出されなかった成分のうち, GC-ECD では  $\delta$ -BHC, オキシクロルデン, アルドリン及び *o,p'*-DDE の保持時間付近にピークが検出された.

$\delta$ -BHC 及びオキシクロルデンは堆肥の測定成分対象からは外れているが, その他の農薬も GC-ECD で検出された場合は GC-MS で確認するべきと考える.

Table 9 Pesticide affected by quantification due to contaminating peak

Sample	Pesticide <sup>a)</sup>
Compost 1	$\delta$ -BHC, Oxychlorane
Compost 2	$\delta$ -BHC
Construction waste	Ardrin, $\delta$ -BHC
Pine chips	Ardrin, o,p'-DDE

a) Peak was detected near by standard retention time by GC-ECD, but no detected by GC-MS.

#### 4. まとめ

GC-ECD を用いて堆肥及び松の木くず中の有機塩素系農薬の試験法の検討をおこなったところ、次のとおりの成績を得た。

(1) 検量線は 10 ng/mL～200 ng/mL の範囲で直線性を示し、決定係数は  $r^2=0.99$  以上であった。

(2) 堆肥及び木くずに有機塩素系農薬として 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量、堆肥に 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量並びに木くずに 80  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量を添加し 3 点併行分析を実施した。平均回収率は一部の農薬を除き、豚糞堆肥中で 62.5 %～118 %, *RSD* は 7.7 %以下、松の木の 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量では率は 35.6 %～109 %, *RSD* は 16.1 %以下であった。豚糞堆肥では、今回検討を行った有機塩素系農薬 22 種類のうち、 $\alpha$ -BHC、 $\delta$ -BHC 及びオキシクロルデンを除き、肥料等試験法に示されている真度(回収率)の目標をおおむね満たしていた。なお、満たしていなかった成分は、ヘプタクロル(62.5 %)及び HCB(66.9 %)であった。松の木くずでは、肥料等試験法に示されている真度(回収率)の目標を満たすことができなかった。

(3) 豚糞堆肥及び木くずに有機塩素系農薬として 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量となるようにそれぞれ添加し 2 点併行で日を変えて 5 日間試験を実施し、中間精度及び併行精度の確認を行った。豚糞堆肥では、 $\alpha$ -BHC、 $\delta$ -BHC 及びオキシクロルデン以外の併行相対標準偏差は 14.4 %以下、中間相対標準偏差は 26.4 %以下であり、肥料等試験法に示されている精度の目安を満たしていた。松の木くずでは、回収率が低く、また、併行相対標準偏差、中間相対標準偏差が肥料等試験法に示されている精度の目安を満たしていなかった。

(4) 本法の定量下限は 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ～20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  程度と推定された。また、本法の検出下限は 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ～7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  と推定された。

以上の結果より、GC-ECD を用いた試験法は、今回検討を行った有機塩素系農薬 22 種類のうち、 $\alpha$ -BHC、 $\delta$ -BHC 及びオキシクロルデン以外の成分の堆肥中の含有量を測定するために十分な性能を有していることを確認した。また、松の木くずについては、この試験法が適用できないことを確認した。

#### 文 献

- 1) 飼料分析基準(平成 20 年 4 月 1 日付け 19 消安第 14729 号 農林水産省消費・安全局長通知)
- 2) 愛玩動物用飼料等の検査法 (平成 21 年 9 月 1 日付け 21 消技第 1764 号 (独)農林水産消費安全技術センター)
- 3) 食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法 (平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知)
- 4) Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate, AOAC Official Method 2007.01

## Determination of Organic Chloride Pesticides in Composts using Gas Chromatography-Electron Capture Detector (GC-ECD)

Tomoharu NOZAKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

A GC-ECD method for determination of organic chloride pesticides in compost was developed and validated as a single-laboratory validation. The pesticides were extracted from analytical sample with acetonitrile. The extract was purified by Gel Permeation Chromatography and solid phase extraction, and diluted with acetone. The organic chloride pesticides was analysis by GC-ECD on (14%-Cyanopropylphenyl)-Methylpolysiloxane column. As a result of 3 replicate analysis of 2 samples spiked with organic chloride pesticides at 20 µg/kg, 50 µg/kg and 80 µg/kg, the mean recovery of pesticides were 62.5 % ~ 118 % (compost) and 35.6 % ~ 109 % (pine chips, spiked level 20 µg/kg). In the train of duplicate analysis per 5 days, the repeatability and intermediate precision of organic chloride pesticides were under 14.4 % and under 26.4 % without  $\alpha$ -BHC,  $\delta$ -BHC and oxy-Chlordane case compost. Case pine chips, low recovery. On the basis of 7 replicate measurements of organic chloride pesticide added to samples, the *LOQ* value were 10 µg/kg ~ 20 µg/kg. These results demonstrated that this method was validated for the determination of organic chloride pesticides without  $\alpha$ -BHC,  $\delta$ -BHC and oxy-Chlordane in compost.

*Key words* Organic chloride pesticides, GC-ECD

(Research Report of Fertilizer, **10**, 41-60, 2017)