

食安発第0315001号
平成18年3月15日

各

都道府県知事
保健所設置市長
特別区長

 殿

厚生労働省医薬食品局食品安全部長

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
の試験法について（一部改正）

食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件（平成17年厚生労働省告示第499号）が平成17年11月29日公布され、その内容については、同日付け食安発第1129001号当職通知をもって通知したところである。

これに関連して、今般、「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について（平成17年1月24日付け食安発第0124001号当職通知）の別添の一部を下記のとおり改正することとしたので、関係者への周知方よろしく願います。

なお、本通知による改正内容は、平成18年5月29日より適用されるものであることを申し添える。

記

1. 前文及び目次を別紙1のとおり改める。なお、改正部分を下線で示す。
2. 「第3章 個別試験法」に別紙2の試験法を追加する。
3. 「第3章 個別試験法」の「BHC、DDT、アルドリン、ジコホール、ディルドリン、テフルトリン、トリフルラリン、ハルフェンプロックス及びフェ

ンプロパトリン試験法」を「BHC、 γ -BHC、DDT、アルドリン、エタルフルラリン、エトリジアゾール、キントゼン、クロルデン、ジコホール、ディルドリン、テクナゼン、テトラジホン、テフルトリン、トリフルラリン、ハルフェンプロックス、フェンプロパトリン、ヘキサクロロベンゼン、ヘプタクロール、ベンフルラリン及びメトキシクロール試験法」として別紙3のとおり改め、「2,4-D試験法」を「2,4-D、2,4DB及びクロプロップ試験法」として別紙4のとおり改め、「アセフェート及びメタミドホス試験法」を「アセフェート、オメトエート及びメタミドホス試験法」として別紙5のとおり改める。

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

厚生労働省医薬食品局食品安全部

平成 1 8 年 3 月

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

食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生省告示第370号)の第1食品の部A食品一般の成分規格の6の(1)の表の第1欄、7の(1)の表の第1欄及び9の(1)の表の第1欄に掲げる農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質(その物質が化学的に変化して生成した物質を含む。)の試験法(同表第3欄に「不検出」と定めているものに係るものを除く。)について、次のとおり定める。

第1章 総則

第2章 一斉試験法

第3章 個別試験法

「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について」(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)別添

目 次

第1章 総則

第2章 一斉試験法

- ・ GC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）
- ・ LC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）
- ・ LC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）
- ・ GC/MS による農薬等の一斉試験法（畜水産物）
- ・ HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法（畜水産物）
- ・ HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法（畜水産物）

第3章 個別試験法

- ・ BHC、γ-BHC、DDT、アルドリン、エタルフルラリン、エトリジアゾール、キントゼン、クロルデン、ジコホル、ディルドリン、テクナゼン、テトラジホン、テフルトリン、トリフルラリン、ハルフェンプロックス、フェンプロパトリン、ヘキサクロロベンゼン、ヘプタクロール、ベンフルラリン及びメトキシクロール試験法
- ・ 2, 4 - D、2, 4 - DB及びクロプロップ試験法
- ・ DCIP 試験法
- ・ DBEDC 試験法
- ・ EPN、エディフェンホス、エトプロホス、エトリムホス、カズサホス、キナルホス、クロルピリホス、クロルフェンピンホス、ジメチルピンホス、ジメトエート、ダイアジノン、チオメトン、テルブホス、トリアゾホス、トルクロホスメチル、パラチオン、パラチオンメチル、ピラクロホス、ピリミホスメチル、フェニトロチオン、フェンスルホチオン、フェンチオン、フェントエート、プタミホス、プロチオホス、ホキシム、ホサロン、ホスチアゼート及びマラチオン試験法
- ・ EPTC 試験法
- ・ MCPA 及びジカンバ試験法
- ・ アクリナトリン、シハロトリン、シフルトリン、シペルメトリン、デルタメトリン、トラロメトリン、ピフェントリン、ピレトリン、フェンパレレート、フルシトリネート、フルバリネート及びペルメトリン試験法
- ・ アシベンゾラルSメチル試験法
- ・ アジムスルフロン、ハロスルフロンメチル及びフラザスルフロン試験法
- ・ アシュラム試験法
- ・ アセキノシル試験法
- ・ アセタミプリド試験法
- ・ アセフェート、オメトエート及びメタミドホス試験法
- ・ アゾキシストロピン試験法
- ・ アニラジン試験法
- ・ アミトラス試験法

- ・ アラクロール、イソプロカルブ、クレソキシムメチル、ジエトフェンカルブ、テニルクロール、テブフェンピラド、パクロブトラゾール、ピテルタノール、ピリプロキシフェン、ピリミノバックメチル、フェナリモル、ブタクロール、フルトラニル、プレチラクロール、メトラクロール、メフェナセット、メプロニル及びレナシル試験法
- ・ アラニカルブ試験法
- ・ アルジカルブ、エチオフェンカルブ、オキサミル、カルバリル、ピリミカーブ、フェノブカルブ及びベンダイオカルブ試験法
- ・ イオドスルフロンメチル、エタメツルフロンメチル、エトキシスルフロン、シノスルフロン、スルホスルフロン、トリアスルフロン、ニコスルフロン、ピラソスルフロンエチル、プリミスルフロンメチル、プロスルフロン及びリムスルフロン試験法
- ・ イソフェンホス試験法
- ・ イソメタミジウム試験法
- ・ イナベンフィド試験法
- ・ イプロジオン試験法
- ・ イベルメクチン、エプリノメクチン及びモキシデクチン試験法
- ・ イマザモックスアンモニウム塩試験法
- ・ イマザリル試験法
- ・ イマゾスルフロン及びベンスルフロンメチル試験法
- ・ イミノクタジン試験法
- ・ イミベンコナゾール試験法
- ・ インダノファン試験法
- ・ ウニコナゾールP試験法
- ・ エスプロカルブ、クロルプロファミン、チオベンカルブ、ピリプチカルブ及びペンディメタリン試験法
- ・ エチクロゼート試験法
- ・ エチプロール試験法
- ・ エトキサゾール試験法
- ・ エトキシキン試験法
- ・ エトフェンプロックス試験法
- ・ エトベンザニド試験法
- ・ エマメクチン安息香酸塩試験法
- ・ オキサジクロメホン及びフェノキサニル試験法
- ・ オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン及びテトラサイクリン試験法
- ・ オキサリニック酸試験法
- ・ オクスフェンダゾール、フェバンテル及びフェンベンダゾール試験法
- ・ カフェンストロール、ジフェノコナゾール、シプロコナゾール、シメトリン、チフルザミド、テトラコナゾール、テブコナゾール、トリアジメノール、フルジオキシニル、プロピコナゾール、ヘキサコナゾール及びベンコナゾール試験法
- ・ カルタップ、ベンスルタップ及びチオシクラム試験法
- ・ カルプロパミド試験法
- ・ カルベンダジム、チオファネート、チオファネートメチル及びベノミル試験法
- ・ カルボスルファン、カルボフラン、フラチオカルブ及びベンフラカルブ試験法
- ・ カンタキサンチン試験法

- ・ キザロホップエチル試験法
- ・ キノメチオネート試験法
- ・ キャプタン、クロルベンジレート、クロロタロニル及びホルペット試験法
- ・ キンクロラック試験法
- ・ クミルロン試験法
- ・ グリホサート試験法
- ・ グルホシネート試験法
- ・ クレトジム試験法
- ・ クロサンテル試験法
- ・ クロチアニジン試験法
- ・ クロフェンテジン試験法
- ・ クロリムロンエチル及びトリベヌロンメチル試験法
- ・ クロルスルフロロン及びメトスルフロロンメチル試験法
- ・ クロルフェナピル及びピフェノックス試験法
- ・ クロルフルアズロン、ジフルベンズロン、テブフェノジド、テフルベンズロン、フルフェノクスロン、ヘキサフルムロン及びルフェヌロン試験法
- ・ クロルメコート試験法
- ・ ゲンタマイシン試験法
- ・ サラフロキサシン及びダノフロキサシン試験法
- ・ 酸化フェンブタスズ試験法
- ・ シアゾファミド試験法
- ・ シアナジン試験法
- ・ ジアフェンチウロン試験法
- ・ **シアン化水素試験法**
- ・ ジクラズリル及びナイカルバジン試験法
- ・ シクロキシジム試験法
- ・ ジクロシメット試験法
- ・ シクロスルファミロン試験法
- ・ ジクロフルアニド試験法
- ・ ジクロメジン試験法
- ・ ジクロルボス及びトリクロルホン試験法
- ・ **ジノカップ試験法**
- ・ シハロホップブチル及びジメテナミド試験法
- ・ ジヒドロストレプトマイシン、ストレプトマイシン、スペクチノマイシン及びネオマイシン試験法
- ・ ジフェンゾコート試験法
- ・ ジフルフェニカン試験法
- ・ シプロジニル試験法
- ・ ジメチピン試験法
- ・ ジメトモルフ試験法
- ・ シモキサニル試験法
- ・ 臭素試験法
- ・ シラフルオフエン試験法
- ・ シロマジン試験法（農産物）

- ・ シロマジン試験法（畜産物）
- ・ シンメチリン試験法
- ・ スピノサド試験法
- ・ スピラマイシン試験法
- ・ スルファジミジン試験法
- ・ セトキシジム試験法
- ・ セフチオフル試験法
- ・ ゼラノール試験法
- ・ ダイムロン試験法
- ・ ダゾメット、メタム及びメチルイソチオシアネート試験法
- ・ ターバシル試験法
- ・ チアベンダゾール及び5 - プロピルスルホニル - 1 H - ベンズイミダゾール - 2 - アミン試験法
- ・ チオジカルブ及びメソミル試験法
- ・ チルミコシン試験法
- ・ テクロフタラム試験法
- ・ デスメディファム試験法
- ・ テブラロキシジム試験法
- ・ テレフタル酸銅試験法
- ・ トリクラベンダゾール試験法
- ・ トリクラミド試験法
- ・ トリシクラゾール試験法
- ・ トリネキサパックエチル試験法
- ・ トリフルミゾール試験法
- ・ トルフェンピラド試験法
- ・ 鉛試験法
- ・ ニテンピラム試験法
- ・ ノバルロン試験法
- ・ バミドチオン試験法
- ・ ビオレスメトリン試験法
- ・ ピクロラム試験法
- ・ ビスピリバックナトリウム塩試験法
- ・ ヒ素試験法
- ・ ビフェナゼート試験法
- ・ ヒメキサゾール試験法
- ・ ピメトロジン試験法
- ・ ピラゾキシフェン試験法
- ・ ピラフルフェンエチル試験法
- ・ ピリダベン試験法
- ・ ピリダリル試験法
- ・ ピリデート試験法
- ・ ピリフェノックス試験法
- ・ ピリミジフェン試験法
- ・ ピリメタニル試験法

- ・ ピルリマイシン試験法
- ・ ファモキサドン試験法
- ・ フィプロニル試験法
- ・ フェノキサプロップエチル試験法
- ・ フェンアミドン試験法
- ・ フェントラザミド試験法
- ・ フェンピロキシメート試験法
- ・ フェンヘキサミド試験法
- ・ **フェンチン試験法**
- ・ ブチレート試験法
- ・ フラメトピル試験法
- ・ フルアジナム試験法
- ・ フルアジホップ試験法
- ・ フルオルイミド試験法
- ・ フルシラゾール試験法
- ・ フルスルファミド試験法
- ・ フルベンダゾール試験法
- ・ フルミオキサジン試験法
- ・ プロクロラズ試験法
- ・ プロシミドン試験法
- ・ プロパモカルブ試験法
- ・ プロヒドロジャスモン試験法
- ・ プロヘキサジオンカルシウム塩試験法
- ・ ヘキシチアゾクス試験法
- ・ ペンシクロン試験法
- ・ ベンジルペニシリン試験法
- ・ **ベンゾピシクロン試験法**
- ・ ベンタゾン試験法
- ・ ペントキサゾン試験法
- ・ ベンフレセート試験法
- ・ ボスカリド試験法（農産物）
- ・ ボスカリド試験法（畜産物）
- ・ ホセチル試験法
- ・ マレイン酸ヒドラジド試験法
- ・ ミクロブタニル試験法
- ・ メタベンズチアズロン試験法
- ・ **メタミトロン試験法**
- ・ メチオカルブ試験法
- ・ メトプレン試験法
- ・ メトリブジン試験法
- ・ メパニピリム試験法
- ・ モリネート試験法
- ・ レバミゾール試験法

(参考) 食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生省告示第370号)に規定する試験法

- ・ 2, 4, 5 - T 試験法
- ・ アゾシクロチン及びシヘキサチン試験法
- ・ アミトロール試験法
- ・ アルドリン、エンドリン及びディルドリン試験法
- ・ カプタホール試験法
- ・ カルバドックス試験法
- ・ クマホス試験法
- ・ クレンプテロール試験法
- ・ クロラムフェニコール試験法
- ・ クロルプロマジン試験法
- ・ ジエチルスチルベストロール試験法
- ・ ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾール試験法
- ・ ダミノジッド試験法
- ・ デキサメタゾン試験法
- ・ トリアゾホス及びパラチオン試験法
- ・ - トレンボロン及び - トレンボロン試験法
- ・ 二臭化エチレン試験法
- ・ ニトロフラン類試験法
- ・ プロファム試験法

第 3 章 個別試験法

(追加：D B E D C 試験法、アシュラム試験法、アニラジン試験法、アラニカルブ試験法、イオドスルフロンメチル、エタメツルフロンメチル、エトキシスルフロン、シノスルフロン、スルホスルフロン、トリアスルフロン、ニコスルフロン、ピラゾスルフロンエチル、プリミスルフロンメチル、プロスルフロン及びリムスルフロン試験法、オキシリニック酸試験法、カルタップ、ベンスルタップ及びチオシクロラム試験法、カルベンダジム、チオファネート、チオファネートメチル及びベノミル試験法、カルボスルファン、カルボフラン、フラチオカルブ及びベンフラカルブ試験法、シアン化水素試験法、ジノカップ試験法、ダゾメット、メタム及びメチルイソチオシアネート試験法、チオジカルブ及びメソミル試験法、ヒメキサゾール試験法、フェンチン試験法、ベンゾピシクロン試験法、メタミトロン試験法)

DBEDC 試験法（農作物）

1．分析対象化合物

DBEDC

2．装置

蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-FL）

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の 2 に示すものを用いる。

グラファイトカーボンミニカラム（1,000 mg） 内径 12～13 mm のポリエチレン製の
カラム管に、グラファイトカーボン 1,000 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離
特性を有するもの。

メチレンブルー溶液 メチレンブルー（三水和物）0.29 g 及びリン酸ナトリウム（二
水和物）65 g を水に溶かし、硫酸 6.8 mL を加え、水で全量を 1 L とし、ジクロロメタ
ン 200 mL ずつで 3 回洗浄したもの。

DBEDC 標準品 本品は DBEDC99%以上を含む。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合は、試料 10.0 g を量り採り、0.6 mol/L 水酸化ナトリウ
ム溶液 20 mL を加え、2 時間放置する。

茶及びホップの場合は、試料 5.00 g を量り採り、0.6 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 20
mL を加え、2 時間放置する。

果実、野菜及びハーブの場合は、試料 20.0 g を量り採り、2 mol/L 水酸化ナトリウム
溶液 20 mL を加える。

これにメタノール 150 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残
留物に、メタノール 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過を行う。得られ
たる液を合わせ、40 以下で約 20 mL に減圧濃縮する。これに 0.5 mol/L 硫酸を加え、p
H 7 に調整した後、水を加えて 100 mL とする。

抽出液の 20 mL を正確に量り採り、メチレンブルー溶液 40 mL を加え、ジクロロメ
タン 50 mL ずつで 2 回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、
無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この
残留物に水 5 mL を加えて溶かす。

2) 精製

グラファイトカーボンミニカラム (1,000 mg) にジクロロメタン、メタノール及び水各 10 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られた抽出溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、抽出溶液が入っていた容器を水 5 mL 及びメタノール 2 mL で順次洗い、各洗液をカラムに注入し、流出液は捨てる。次いで、ジクロロメタン及びメタノール (7 : 3) 混液 7 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、25 mmol/L ギ酸含有ジクロロメタン及びメタノール (9 : 1) 混液 7 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、10 mmol/L 水酸化テトラメチルアンモニウム含有ジクロロメタン及びメタノール (9 : 1) 混液 7 mL を注入し、溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に水及びメタノール (1 : 4) 混液を加えて溶かし、穀類、豆類及び種実類の場合は正確に 2 mL、茶及びホップの場合は正確に 1 mL、果実、野菜及びハーブの場合は正確に 4 mL とする。

5. 検量線の作成

DBEDC 標準品について、標準原液をメタノールで調製し、水及びメタノール (1 : 4) 混液で希釈して 0.5 ~ 4 mg/L の標準溶液を数点調製し、100 µL を HPLC に注入し、ピク高法又はピク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 100 µL を HPLC に注入し、5 の検量線で DBEDC の含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS により確認する。

8. 測定条件

1) HPLC

検出器：FL (励起波長 225 nm, 蛍光波長 295 nm)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 3 µm)、内径 4.6 mm、長さ 150 mm

カラム温度：40

移動相：酢酸、10 mmol/L 酢酸アンモニウム及びメタノール (0.1 : 20 : 80) 混液

注入量：100 µL

保持時間の目安：6 分

2) LC/MS

カラム：オクチルシリル化シリカゲル (粒径 3 µm)、内径 2.0 mm、長さ 150 mm

カラム温度：40

移動相：10 mmol/L 酢酸アンモニウム及びメタノール（1：3）混液

イオン化モード：ESI（-）

主なイオン（ m/z ）：325

注入量：2 μ L

保持時間の目安：7分

9．定量限界

0.5 mg/kg

10．留意事項

1）試験法の概要

DBEDC を塩基性下で試料からメタノールで抽出し、中性下でジクロロメタンに転溶する。グラファイトカーボンミニカラムで精製した後、HPLC-FL で測定し、LC/MS で確認する方法である。

2）注意点

精製が不足する場合は、精製を追加する。

グラファイトカーボンミニカラムからの溶出液を濃縮し、水 10 mL に溶かす。ジエチルアミノプロピルシリカゲルミニカラム（500 mg）をメタノール 5 mL 及び水 5 mL で順次洗浄したものに溶液を注入し、次いでメタノール 1 mL を注入し、流出液は捨てる。アンモニア水及びメタノール（1：49）混液 10 mL を注入し、溶出液を濃縮して溶媒を除去し、残留物を酢酸エチルに溶かして試験溶液とする。

HPLC のカラムはオクタデシルシリル化シリカゲルよりオクチルシリル化シリカゲルの方がピークの形状は良好だが、妨害ピークとの分離はオクタデシルシリル化シリカゲルが優れている。

LC/MS の移動相はメタノールの組成比を上げて（1：4）混液とした方がピーク形状は良好であるが、試料成分によるイオン化阻害が起きやすい。

LC/MS では HPLC より高感度分析が可能である。

11．参考文献

1）環境省告示第 21 号「DBEDC 試験法」（昭和 60 年 3 月 27 日）

12．類型

C

アシュラム試験法（農産物）

1．分析対象化合物

アシュラム

アシュラムナトリウム塩

2．装置

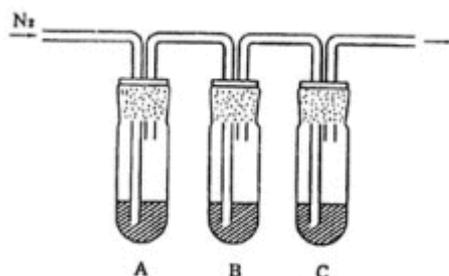
アルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ(GC-FTD)又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ（GC-NPD）及びガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

メチル化装置 図に示したもの

A：エーテル管

B：ジアゾメタン発生管

C：反応管



3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

凝固液 塩化アンモニウム 5 g 及びリン酸 10 mL を水に溶かし、100 mL としたもの。

メチル化試薬 水酸化カリウム 6 g に水及びメタノール（2：7）混液 45 mL を加えて溶かし、その 10 mL をジアゾメタン発生管に採った上、使用の直前に 2 % *N*-メチル-*N*-ニトロソ-4-トルエンスルホン酸アミド・エーテル溶液を加える。

アシュラム標準品 本品はアシュラム 99% 以上を含み、融点は 143～144 である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合は試料 10.0 g、果実、野菜及びハーブの場合は試料 20.0 g、茶及びホップの場合は 5.00 g を量り採る。これにメタノール 100 mL を加え、30 分間振とうした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にメタノール 50 mL を加え、上記と同

様に振とう及びろ過を行う。得られたろ液を合わせ、40 以下で約 20 mL に濃縮する。

これに 1 mol/L 塩酸を加えて pH 2 ~ 3 に調整し、凝固液 5 mL 及びケイソウ土 2 g を加え、緩やかに振り混ぜ、5 分間放置した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を、水で 10 倍に希釈した凝固液 25 mL で洗い、全ろ液を合わせ、酢酸エチル 30 mL ずつで 3 回抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、メチル化装置の反応管に移す。

2) メチル化

反応管をジアゾメタン発生管に接続し、窒素ガスを穏やかに通じて反応させる。反応液が微黄色を呈するまで通気し、室温で 15 分間放置した後、反応液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 10 mL に溶かす。

3) 精製

クロマトグラフ管 (内径 15 mm) にカラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム 5 g を酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液に懸濁させて充てんし、無水硫酸ナトリウム約 5 g を積層する。このカラムに 2) で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 20 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、同混液 60 mL を注入し、溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶解し、正確に 4 mL (穀類、豆類及び種実類の場合は 2 mL、茶及びホップの場合は 1 mL) としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

アシュラム標準品の 100 mg/L メタノール溶液を調製し、その 1 mL をメチル化装置の反応管に移し、酢酸エチル 100 mL を加えてジアゾメタン発生管に接続する。以下、4. 2) メチル化と同様に操作する。残留物をメタノールに溶解し、正確に 10 mL とする。この溶液をメタノールで希釈し 0.1 ~ 3 mg/L の溶液を調製し、それぞれ 2 μ L を GC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 2 μ L を GC に注入し、5 の検量線でアシュラムの含量を求める。

7. 確認試験

GC/MS により確認する。

8. 測定条件

GC

検出器：FTD 又は NPD

カラム：メチルシリコン 内径 0.2 mm、長さ 10 m

カラム温度：100 - 30 /分 - 280

注入口温度：250

検出器温度：280

キャリアーガス：窒素ガス又はヘリウム

保持時間の目安：5 分

9 . 定量限界

0.02 mg/kg

10 . 留意事項

1) 試験法の概要

アシュラムを試料からメタノールで抽出したのち、塩酸酸性下で凝固液を加え、酢酸エチルで抽出する。ジアゾメタンでメチル化したのち、合成ケイ酸マグネシウムカラムで精製し、GC-FTD 又は GC-NPD で定量し、GC/MS で確認する方法である。

2) 注意点

メチル化反応はジアゾメタンが過剰になり、溶液が微黄色を呈するまで通気する。

11 . 参考文献

1) 上路雅子ら、2002 年度版「残留農薬分析法」39 頁、ソフトサイエンス社

2) 今月の農業編集室編 改定 4 版「農薬登録保留基準ハンドブック」p.32-34、化学工業日報社 (2003)

12 . 類型

A (環境省告示第 45 号「アシュラム試験法」昭和 61 年 10 月 28 日)

アニラジン試験法（農産物）

1．分析対象化合物

アニラジン

2．装置

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ（GC-ECD）

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

アニラジン標準品 本品はアニラジン 99%以上を含み、融点は 159～160 である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

種実類の場合

試料 10.0 g を量り採り、10%リン酸溶液 20 mL を加え、2 時間放置する。

これにアセトン 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、40 以下で約 30 mL に濃縮する。

これに 10%塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、*n*-ヘキサン 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。

この残留物に *n*-ヘキサン 30 mL を加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL ずつで 3 回振とう抽出する。抽出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサン 2 mL を加えて溶かす。

果実、野菜及びハーブの場合

検体約 1 kg を精密に量り、10～20%リン酸溶 500 mL を加え、細切均一化する。検体 20.0 g に相当する試料にアセトン 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、40 以下で約 30 mL に濃縮する。

これに 10%塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、*n*-ヘキサン 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサン

2 mL を加えて溶かす。

2) 精製

クロマトグラフ管(内径 15 mm)に、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム 5 g を *n*-ヘキサンに懸濁させて充てんし、無水硫酸ナトリウム約 5 g を積層する。このカラムに 1) で得られた溶液を注入した後、流出液は捨てる。さらに、*n*-ヘキサン 100 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン及び *n*-ヘキサン(1:99)混液 70 mL を注入する。溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を *n*-ヘキサンに溶解し、正確に 5 mL(種実類の場合は 2 mL)としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

アニラジン標準品の 0.1 ~ 2 mg/L *n*-ヘキサン溶液を数点調製し、それぞれ 2 μ L を GC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 2 μ L を GC に注入し、5 の検量線でアニラジンの含量を求める。

7. 確認試験

GC/MS で確認する。

8. 測定条件

1) GC

検出器：ECD

カラム：5%フェニル-メチルシリコン、内径 0.32 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μ m

カラム温度：60 (2分) - 10 /分 - 180 (5分) - 6 /分 - 250 (1分) -
10 /分 - 300 (10分)

注入口温度：250

検出器温度：310

キャリアーガス：窒素ガス

保持時間の目安：24 分

2) GC/MS

カラム：5%フェニル-メチルシリコン、内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μ m

カラム温度：60 (2分) - 10 /分 - 180 (5分) - 6 /分 - 250 (1分) -
10 /分 - 300 (10分)

注入口温度：250

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード（電圧）：EI（70 eV）

主なイオン（ m/z ）：241、239

9．定量限界

0.01 mg/kg

10．留意事項

1) 試験法の概要

リン酸溶液を加えて細切均一化した試料から、アニラジンをアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。次いで、果実、野菜及びハーブについてはそのまま、種実類についてはアセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂する。合成ケイ酸マグネシウムカラムで精製した後、GC-ECDで測定し、GC/MSで確認する方法である。

2) 注意点

アニラジンはキャベツ、大根などの作物中で分解されやすいため、リン酸溶液を加えて速やかに細切均一化する。

11．参考文献

辻 正彦 他 兵庫県衛生研究所年報、32, 140, 1997

月岡 忠 他 長野県衛生公害研究所、26, 23, 2003

12．類型

C

アラニカルブ試験法（農産物）

1．分析対象化合物

アラニカルブ

2．装置

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-UV）
液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

0.2 mol/L リン酸緩衝液（pH 8）

第1液：pH測定用リン酸一カリウム 13.61 g を水に溶かし、500 mL とする。

第2液：水酸化ナトリウム 4.0 g に新たに煮沸して冷却した水を加えて溶かし、500 mL とする。用時調製する。

第1液 250 mL に第2液 231 mL を混和し、水を加えて 1,000 mL とする。

アラニカルブ標準品 本品はアラニカルブ 99%以上を含み、融点は 47 である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

種実類の場合

試料 10.0 g を量り採り、0.2 mol/L リン酸緩衝液（pH 8）20 mL を加え、2 時間放置する。

これにアセトン100 mLを加えてホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、40 以下で約30 mLに濃縮する。

これに10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、酢酸エチル100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。

この残留物に *n*-ヘキサン30 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLずつで3回振とう抽出する。抽出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて正確に 1 mLとする。

果実、野菜、ハーブ及び抹茶の場合

果実の場合は、検体約 1 kgを精密に量り、0.2 mol/Lリン酸緩衝液（pH 8）400 mL及び飽和炭酸水素ナトリウム溶液100 mLを加えて、細切均一化する。検体20.0 g に相当す

る量を量り採る。

野菜及びハーブの場合は、検体約 1 kg を精密に量り、0.2 mol/L リン酸緩衝液 (pH 8) 500 mL を加えて、細切均一化する。検体 20.0 g に相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、試料 5.00 g に 0.2 mol/L リン酸緩衝液 (pH 8) 20 mL を加え、2 時間放置する。

これにアセトン 100 mL を加えてホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、40 以下で約 30 mL に濃縮する。

これに 10% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、酢酸エチル 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて正確に 2 mL とする。

抹茶以外の茶の場合

試料 5.00 g に 100 の水 300 mL を加え、室温で 5 分間放置した後、ろ過する。冷後、ろ液 120 mL を採り、塩化ナトリウム 40 g を加えて、酢酸エチル 150 mL ずつで 2 回抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて正確に 1 mL とする。

2) 精製

エチレンジアミン - *N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 19) 混液 10 mL 及び *n*-ヘキサン 10 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、このカラムに 1) で得られた溶液 0.5 mL を注入し、流出液は捨てる。さらに、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 49) 混液 20 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 19) 混液 25 mL を注入し、溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をアセトニトリルに溶解して正確に 0.5 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

アラニカルブ標準品の 0.1 ~ 2 mg/L アセトニトリル溶液を数点調製する。それぞれ 10 μ L を HPLC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 10 μ L を HPLC に注入し、5 の検量線でアラニカルブの含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS により確認する。

8. 測定条件

HPLC

検出器：UV (波長 230 nm)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 5 μm)、内径 4.6 mm、長さ 150 mm

カラム温度：50

移動相：アセトニトリル及び水 (1 : 1) 混液

注入量：10 μL

保持時間の目安：10 分

LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 5 μm)、内径 2.0 ~ 4.6 mm、長さ 150 ~ 250 mm

カラム温度：40 ~ 50

移動相：アセトニトリル及び水 (1 : 1) 混液

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (m/z): 400

注入量：5 ~ 10 μL

保持時間の目安：11 分

9. 定量限界

0.01 mg/kg (茶は 0.1 mg/kg)

10. 留意事項

1) 試験法の概要

アラニカルブを試料からアセトンで抽出し、酢酸エチルに転溶する。果実、野菜、ハーブ及び抹茶はそのまま、種実類はアセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂する。エチレンジアミン - *N* - プロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、HPLC-UV で測定し、LC/MS で確認する方法である。

2) 注意点

アラニカルブは、酸性及びアルカリ性で速やかにメソミル及びメチルチオアセトヒドロキシマートに変化する。酸性の強い試料では、飽和炭酸水素ナトリウム溶液を加え、抽出時の液性を pH 8 付近に保つ必要がある。

エチレンジアミン - *N* - プロピルシリル化シリカゲルミニカラムによる精製でアラニカルブとともに溶出されたメソミルは、HPLC で分離できる。

1 1 . 参考文献

伊藤正子ら , 食品衛生学雑誌 , 39, 218-224 (1998)

1 2 . 類型

C

イオドスルフロンメチル、エタメツルフロンメチル、エトキシスルフロン、シノスルフロン、スルホスルフロン、トリアスルフロン、ニコスルフロン、ピラゾスルフロンエチル、プリミスルフロンメチル、プロスルフロン及びリムスルフロン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
イオドスルフロンメチル	イオドスルフロンメチル及びイオドスルフロンメチルナトリウム塩
エタメツルフロンメチル	エタメツルフロンメチル
エトキシスルフロン	エトキシスルフロン
シノスルフロン	シノスルフロン
スルホスルフロン	スルホスルフロン
トリアスルフロン	トリアスルフロン
ニコスルフロン	ニコスルフロン
ピラゾスルフロンエチル	ピラゾスルフロンエチル
プリミスルフロンメチル	プリミスルフロンメチル
プロスルフロン	プロスルフロン
リムスルフロン	リムスルフロン

2. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

酸性アルミナミニカラム（1,710 mg） 内径9～10 mmのポリエチレン製のカラム管に、酸性アルミナ 1,710 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

ジビニルベンゼン - *N* - ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（500 mg） 内径12～13 mmのポリエチレン製のカラム管に、ジビニルベンゼン - *N* - ビニルピロリドン共重合体 500 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

イオドスルフロンメチル標準品 本品はイオドスルフロンメチルナトリウム塩 92%以上を含み、融点は152 である。

エタメツルフロンメチル標準品 本品はエタメツルフロンメチル 98%以上を含み、融点は194 である。

エトキシスルフロン標準品 本品はエトキシスルフロン 97%以上を含み、融点は

144～147 である。

シノスルフロンの標準品 本品はシノスルフロンの97%以上を含み、融点は127～135である。

スルホスルフロンの標準品 本品はスルホスルフロンの98%以上を含み、融点は201～202 である。

トリアスルフロンの標準品 本品はトリアスルフロンの97%以上を含み、融点は178である。

ニコスルフロンの標準品 本品はニコスルフロンの98%以上を含み、融点は169～172である。

ピラゾスルフロンのエチル標準品 本品はピラゾスルフロンのエチル98%以上を含み、融点は178～180 である。

プリミスルフロンのメチル標準品 本品はプリミスルフロンのメチル99%以上を含み、融点は195～197 である。

プロスルフロンの標準品 本品はプロスルフロンの98%以上を含み、融点は155 である。

リムスルフロンの標準品 本品はリムスルフロンの99%以上を含み、融点は172～173である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合は試料 10.0 g を量り採り、水 30 mL を加え、2 時間放置する。果実、野菜及びハーブの場合は試料 20.0 g を量り採る。

これにアセトン 100 mL を加え、60 分間（果実、野菜及びハーブの場合は 30 分間）振とうした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン 50 mL を加え、洗いこみ、上記と同様にろ過する。ろ液を合わせ、40 以下で約 30 mL に濃縮する。

これに10%塩化ナトリウム溶液 100 mL 及び1 mol/L 塩酸 10 mL を加え、酢酸エチル 50 mL ずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、*n*-ヘキサン 100 mL を加え、2%リン酸水素二カリウム溶液 50 mL ずつで2回振とう抽出する。この抽出液に塩化ナトリウム 10 g 及び6 mol/L 塩酸 3 mL を加え、酢酸エチル 50 mL ずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトンを加えて溶かし、正確に10 mL（果実、野菜及びハーブの場合は20 mL）とする。

2) 精製

酸性アルミナカラムクロマトグラフィー

酸性アルミナミニカラム（1,710 mg）にアセトニトリル 10 mL 及びアセトン 10 mL

を順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに1)で得られた溶液の2 mLを注入した後、流出液は捨てる。さらに、アセトン8 mL及びアセトニトリル20 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及び水(9:1)混液10 mLを注入する。溶出液を40以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に水10 mLを加えて溶かす。

ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体カラムクロマトグラフィー

ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム(500 mg)にメタノール10 mL及び水10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに得られた溶液を注入した後、流出液は捨てる。さらに、水及びメタノール(4:1)混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、メタノール15 mLを注入し、溶出液を40以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水(1:1)混液に溶解し、正確に1 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

イオドスルフロンのメチル、エタメツルフロンのメチル、エトキシスルフロンの、シノスルフロンの、スルホスルフロンの、トリアスルフロンの、ニコスルフロンの、ピラゾスルフロンのエチル、プリミスルフロンのメチル、プロスルフロンの及びリムスルフロンの各標準品の0.02~0.4 mg/Lアセトニトリル及び水(1:1)混液混合溶液を数点調製し、それぞれ4 µLをLC/MSに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液4 µLをLC/MSに注入し、5の検量線でイオドスルフロンのメチル、エタメツルフロンのメチル、エトキシスルフロンの、シノスルフロンの、スルホスルフロンの、トリアスルフロンの、ニコスルフロンの、ピラゾスルフロンのエチル、プリミスルフロンのメチル、プロスルフロンの及びリムスルフロンの含量を求める。

イオドスルフロンのメチルにあつては、係数0.96を乗じてナトリウム塩からイオドスルフロンのメチルへの換算を行う。

7. 確認試験

LC/MSにより確認する。

8. 測定条件

LC/MS

1) エタメツルフロンのメチル、エトキシスルフロンの、シノスルフロンの、スルホスルフ

ロン、トリアスルフロ、ニコスルフロ、ピラゾスルフロエチル、プリミスルフロメチル及びリムスルフロの場合

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 5 μm) 内径 2 ~ 3 mm、長さ 150 mm

カラム温度：40

移動相：1%ギ酸からアセトニトリル及び1%ギ酸(19:1)混液までの濃度勾配を20分間で行う。

イオン化モード：ESI(+)

主なイオン(m/z): エタメツルフロメチル及びニコスルフロ; 411

エトキシスルフロ; 399、シノスルフロ; 414

スルホスルフロ; 471、トリアスルフロ; 402

ピラゾスルフロエチル; 415、プリミスルフロメチル; 469

リムスルフロ; 432

保持時間の目安：プリミスルフロメチル 20分

2) イオドスルフロメチル及びプロスルフロの場合

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 5 μm) 内径 2 ~ 3 mm、長さ 150 mm

カラム温度：40

移動相：1%ギ酸からアセトニトリル及び1%ギ酸(19:1)混液までの濃度勾配を20分間で行う。

イオン化モード：ESI(-)

主なイオン(m/z): イオドスルフロメチル; 506、プロスルフロ; 418

保持時間の目安：プロスルフロ 19.5分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

イオドスルフロメチル、エタメツルフロメチル、エトキシスルフロ、シノスルフロ、スルホスルフロ、トリアスルフロ、ニコスルフロ、ピラゾスルフロエチル、プリミスルフロメチル、プロスルフロ及びリムスルフロを試料からアセトンで抽出し、酸性下で酢酸エチルに転溶し、リン酸水素二カリウム溶液で逆抽出する。これを再び酸性下で酢酸エチルに転溶し、酸性アルミナミニカラム及びジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製した後、LC/MSで測

定し、確認する方法である。

2) 注意点

プリミスルフロロンメチルについては、リン酸水素二カリウム溶液での逆抽出において、抽出率がやや低いので、注意が必要である。

本測定条件における各農薬の保持時間は 16～21 分である。

試料によっては妨害ピークが重なる場合がある。その場合は、長さ 250 mm のカラムを使用するとよい。

1 1 . 参考文献

厚生労働省告示第 94 号「アジムスルフロロン、ハロスルフロロンメチル及びフラザスルフロロン試験法」(平成 14 年 3 月 13 日)

環境省告示第 13 号「エトキシスルフロロン試験法」(平成 10 年 4 月 24 日)

環境省告示第 35 号「シノスルフロロン試験法」(平成 2 年 4 月 10 日)

環境省告示第 88 号「ピラゾスルフロロンエチル試験法」(平成元年 11 月 16 日)

1 2 . 類型

C

オキシリニック酸試験法（農産物）

1．分析対象化合物

オキシリニック酸

2．装置

蛍光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-FL）

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

液相分離ろ紙 液相分離ろ紙（化学分析用ろ紙をシリコン処理したもの）

トリ-*n*-オクチルアミン トリ-*n*-オクチルアミン（純度97%以上のもの）

オキシリニック酸標準品 本品はオキシリニック酸99%以上を含み、融点は250 以上である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

穀類の場合は、試料10.0 gに水20 mLを加え、2時間放置する。

果実、野菜及びハーブの場合は、試料20.0 gを量り採る。

これに12 mol/L塩酸及びメタノール（1：9）混液100 mLを加え、振とうした後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を同混液50 mLで洗浄し、ろ液を合わせ、5%塩化ナトリウム溶液200 mLを加え、ジクロロメタン50 mLずつで2回振とう抽出する。ジクロロメタン層を合わせ、液相分離ろ紙を用いてろ過し、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。

この残留物を4 mol/L水酸化カリウム溶液及びメタノール（1：3）混液5 mLに溶かし、10%塩化ナトリウム溶液50 mL及びジクロロメタン50 mLを加え、振とうする。水層を採り、これに1.2 mol/L塩酸30 mLを加え、ジクロロメタン50 mLずつで2回振とう抽出する。ジクロロメタン層を合わせ、液相分離ろ紙を用いてろ過し、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をジクロロメタン10 mLに溶かす。

2) 精製

シリカゲルミニカラム(690 mg)にジクロロメタン5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1)で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらにアセトン8 mL及び8.5%リン酸溶液0.8 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、ジクロロメタン15 mLを注入し、溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を4 mol/L

水酸化カリウム及びメタノール（1：3）混液に溶解し、正確に8 mL（穀類の場合は4 mL）としたものを試験溶液とする。

5．検量線の作成

オキシリニック酸標準品を4 mol/L 水酸化カリウム溶液及びメタノール（1：3）混液に溶解し、0.025～0.5 mg/L の標準溶液を調製する。この20 µL を HPLC に注入してピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6．定量

試験溶液20 µL を HPLC に注入し、5 の検量線でオキシリニック酸の含量を求める。

7．確認試験

LC/MS により確認する。

8．測定条件

HPLC

検出器：FL（励起波長270 nm、蛍光波長370 nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル、内径2～6 mm、長さ150～300 mm

カラム温度：40

移動相：アセトニトリル、0.5%クエン酸溶液及び0.3%トリ - *n* - オクチルアミン・テトラヒドロフラン溶液（1：8：1）混液

流量：1 mL/min

保持時間の目安：6分

LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径5 µm）内径2 mm、長さ150 mm

カラム温度：40

移動相：0.01%酢酸及びアセトニトリル（7：3）混液から100%アセトニトリルまでの濃度勾配を20分間で行う。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）：262

保持時間の目安：10分

9．定量限界

0.01 mg/kg

10．留意事項

1) 試験法の概要

オキシリニック酸を試料から塩酸酸性下でメタノール抽出し、ジクロロメタンに転溶する。酸・アルカリ分配及びシリカゲルミニカラムによる精製の後、HPLC-FL で測定し、LC/MS で確認する方法である。

11．参考文献

1) 上路雅子ら、2002 年度版残留農薬分析法、391 頁、ソフトサイエンス社

12．類型

A (環境省告示第 73 号「オキシリニック酸試験法」平成 7 年 11 月 28 日)

カルタップ、ベンスルタップ及びチオシクラム試験法（農産物）

1．分析対象化合物

カルタップ、カルタップ塩酸塩

ベンスルタップ

チオシクラム、チオシクラムシュウ酸塩

ネライストキシン、ネライストキシンシュウ酸塩

2．装置

アルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ（GC-FTD）、高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ（GC-NPD）又は炎光光度型検出器（イオウ用干渉フィルター、波長 394 nm）付きガスクロマトグラフ（GC-FPD（S））
ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の 2 に示すものを用いる。

多孔性ケイソウ土カラム（50 mL 保持用） 内径 40 mm のポリエチレン製のカラム管に、試料 50 mL 保持相当量の多孔性ケイソウ土を充てんしたもの又はこれと同等の性能を有するものを用いる。

ネライストキシンシュウ酸塩標準品 本品はネライストキシンシュウ酸塩 99%以上を含み、融点は 168～170 である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

穀類及び種実類の場合

試料 10.0 g を量り採り、1 %L-システイン塩酸塩含有 0.1 mol/L 塩酸 20 mL を加え、2 時間放置する。これに同溶液 100 mL を加え、振とう機を用いて 30 分間激しく振り混ぜた後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、同溶液 50 mL を加えて振とうし、上記と同様にろ過する。得られたろ液に同溶液を加えて正確に 200 mL とする。

果実、野菜及びハーブの場合

検体約 1 kg を精密に量り、1 %L-システイン塩酸塩含有 0.1 mol/L 塩酸 1,000 mL を量って加え、細切均一化する。検体 20.0 g に相当する試料に同溶液 100 mL を加え、振とう機を用いて 30 分間激しく振り混ぜた後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、同溶液 50 mL を加えて振とうし、上記と同様にろ過を行う。得られたろ液に同溶液を加えて正確に 200 mL とする。

抹茶及びホップの場合

試料 5.00 g を量り採り、1 %L-システイン塩酸塩含有 0.1 mol/L 塩酸 20 mL を加え、2 時間放置する。これに同溶液 100 mL を加え、振とう機を用いて 30 分間激しく振り混ぜた後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、同溶液 50 mL を加えて振とうし、上記と同様にろ過を行う。得られたろ液に同溶液を加えて正確に 200 mL とする。

抹茶以外の茶の場合

検体 9.00 g を 100 の水 540 mL に浸し、室温で 5 分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液 180 mL を採る。これに L-システイン塩酸塩 2 g 及び 6 mol/L 塩酸 3 mL を加え、5 分間振とう後、0.1 mol/L 塩酸を加えて正確に 200 mL とする。

2) 加水分解及び酸化

抽出液の 40 mL を採り、これに 2 %塩化ニッケル水溶液 2 mL 及びアンモニア水 5 mL を加え、15 分間振とうする。

3) 精製

多孔性ケイソウ土カラム (50 mL 保持用) に、2) で得られた溶液を注入し、10 分間放置する。次いで、*n*-ヘキサン 150 mL を注入し、溶出液を 30 以下で約 1 mL に濃縮した後、自然乾固により溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶解し、正確に 4 mL (穀類及び種実類の場合は 2 mL) としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ネライストキシンシュウ酸塩標準品の 0.008 ~ 0.16 mg/L メタノール溶液を数点調製し、それぞれ 4 μ L を GC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 4 μ L を GC に注入し、5 の検量線でネライストキシンシュウ酸塩の含量を求め、換算係数 1.14 を乗じてカルタップ塩酸塩としての含量を求める。

7. 確認試験

GC/MS により確認する。

8. 測定条件

1) GC

検出器：FTD、NPD 又は FPD (S)

カラム：50%トリフルオロプロピル - メチルシリコン、内径 0.53 mm、長さ 15m、

膜厚 1 μm

カラム温度：70（1分） - 8 /分 - 160（5分）

注入口温度：250

検出器温度：280

保持時間の目安：5分

2) GC/MS

カラム：5%フェニル-メチルシリコン、内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm

カラム温度：70（1分） - 10 /分 - 280（5分）

注入口温度：250

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード（電圧）：EI（70 eV）

主なイオン（ m/z ）：149、103、70

注入量：1 μL

保持時間の目安：8分

9. 定量限界

カルタップ塩酸塩として 0.01 mg/kg（抹茶及びホップの場合は、0.04 mg/kg、抹茶以外の茶の場合は、0.07 mg/kg）

10. 留意事項

1) 試験法の概要

カルタップ、ベンスルタップ及びチオシクラムを試料から 1%L-システイン塩酸塩含有 0.1 mol/L 塩酸で抽出し、塩基性条件下で加水分解及び酸化により共通代謝物であるネライストキシンに変換する。多孔性ケイソウ土カラムで精製した後、GC-FTD、GC-NPD 又は GC-FPD(S) で測定し、GC/MS で確認する方法である。なお、分析値は、得られたネライストキシンシュウ酸塩の含量に換算係数 1.14 を乗じて、カルタップ、ベンスルタップ及びチオシクラムの総和をカルタップ塩酸塩に換算して求める。

2) 注意点

本試験法は、カルタップ、ベンスルタップ及びチオシクラムを共通代謝物であるネライストキシンに変換し、ネライストキシンシュウ酸塩の含量に換算係数 1.14 を乗じてカルタップ塩酸塩としての含量を求める方法である。ベンスルタップやチオシクラムの各含量を求める場合は、換算係数は、それぞれ 1.80 及び 1.13 となる。

細切均一化の段階では、安定剤として 1%L-システイン塩酸塩含有 0.1 mol/L 塩酸溶液を添加する必要がある。粉碎試料を用いて回収試験を実施する場合は、標準溶液を

添加する前に、安定剤を加える必要がある。なお、L-システイン塩酸塩はベンスルタップ及びチオシクラムの分析に必要であり、カルタップでは必ずしも必要としない。

共通代謝物であるネライストキシンは揮発性が高いので、減圧濃縮する場合は、温度(30以下)や濃縮液量(1 mL程度)に注意する必要がある。最後は自然乾固する。

追加精製として、グラファイトカーボンミニカラムやアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムによる方法がある。以下に操作概要を記す。

a. グラファイトカーボンミニカラム(500 mg): 残留物をアセトン及び*n*-ヘキサン(1:9)混液10 mLに溶解し、これをカラム(アセトン10 mL及び*n*-ヘキサン10 mLで順次洗浄したもの)に負荷し、アセトン及び*n*-ヘキサン(1:9)混液15 mLを流下し、全溶出液を採る。

b. アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(360 mg): 残留物をアセトン及び*n*-ヘキサン(1:9)混液10 mLに溶解し、これをカラム(アセトン10 mL及び*n*-ヘキサン10 mLで順次洗浄したもの)に負荷し、アセトン及び*n*-ヘキサン(1:9)混液15 mLを流下し、全溶出液を採る。

妨害ピークを回避するための代替用GCカラムを以下に記す。カラム1:35%フェニル-メチルシリコン(内径0.53 mm、長さ30m、カラム温度80(1分)-8/分-160)。カラム2:ポリエチレングリコール(内径0.53 mm、長さ30m、カラム温度80(1分)-15/分-200)。

LC/MSを用いて確認することも可能である。カラム:オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径3 µm) 内径2 mm、長さ75 mm、移動相:アセトニトリル及び1 mmol/Lペンタデカフルオロオクタン酸(3:7)混液、イオン化モード:ESI(+), 主なイオン(*m/z*):150、注入量:2 µL、保持時間の目安:4分(文献4)。

1.1. 参考文献

- 1) 環境省告示第84号「カルタップ試験法」(平成2年4月10日)
- 2) 環境省告示第160号「ベンスルタップ試験法」(昭和61年4月14日)
- 3) 環境省告示第110号「チオシクラム試験法」(昭和61年10月28日)
- 4) 小林まなみ、河野真一(島津製作所、分析計測事業部報告、平成16年9月17日)

1.2. 類型

C

カルベンダジム、チオファネート、チオファネートメチル及びベノミル試験法(農産物)

1. 分析対象化合物

カルベンダジム

チオファネート

チオファネートメチル

ベノミル

2. 装置

蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC-FL)

液体クロマトグラフ・質量分析計 (LC/MS)

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

カルベンダジム標準品 本品はカルベンダジム 99%以上を含み、融点は 302～307 である。

チオファネート標準品 本品はチオファネート 99%以上を含み、融点は 195 である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、豆類、種実類、果実、野菜、ハーブ、抹茶及びホップの場合

穀類、豆類及び種実類の場合は、試料 10.0 g に、水 20 mL を加え、2 時間放置する。

果実、野菜及びハーブの場合は、試料 20.0 g を量り採る。

抹茶及びホップの場合は、試料 5.00 g に、水 20 mL を加え、2 時間放置する。

これにメタノール 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、メタノール 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、40 以下で約 30 mL に濃縮する。

これに 10%塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、*n*-ヘキサン 50 mL ずつで 2 回振とう洗浄する。水層に 1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 5 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液に酢酸 0.5 mL を加え、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン 1 mL を加えて溶かす。

抹茶以外の茶の場合

試料 9.00 g に 100 の水 540 mL を加え、室温で 5 分間放置した後、ろ過する。冷後、ろ液 360 mL を採り、飽和酢酸鉛溶液 2 mL を加え、振り混ぜた後、吸引ろ過する。ろ

紙上の残留物を水 50 mL で洗い、ろ液を合わせ、1 mol/L 硫酸 3 mL を加える。生じた沈殿をろ別した後、ろ液を *n*-ヘキサン 50 mL ずつで 2 回振とう洗浄する。水層に 1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 5 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液に酢酸 0.5 mL を加え、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン 1 mL を加えて溶かす。

2) 閉環反応

1) で得られた溶液に 50% 酢酸 10 mL、酢酸銅 100 mg 及び沸石を加え、還流冷却器を取り付けて、120 で 30 分間加熱還流した後、放冷する。

これに 1 mol/L 塩酸 50 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 20 mL ずつで 2 回振とう洗浄する。水層に飽和水酸化ナトリウム溶液 10 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶解し、正確に 2 mL (穀類、豆類及び種実類の場合は 1 mL) としたものを試験溶液とする。

但し、抹茶及びホップの場合は、メタノールの代わりにアセトン及び *n*-ヘキサン (3 : 17) 混液に溶解し、正確に 2 mL とし、次の精製を追加する。

3) 精製 (抹茶及びホップの場合)

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサン (3 : 17) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 2) で得られた溶液 0.5 mL を注入し、流出液は捨てる。さらに、アセトン及び *n*-ヘキサン (3 : 17) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン及び *n*-ヘキサン混液 (3 : 7) 20 mL を注入し、溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶解し、正確に 0.5 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

カルベンダジム標準品及びチオファネート標準品の 20 mg/L アセトン混合標準溶液を調製し、この 1 mL について 4 の 2) 閉環反応と同様の操作を行い、その残留物にメタノールを加えて溶かし、10 mL とする。この溶液をメタノールで希釈し、0.1 ~ 2 mg/L メタノール溶液を数点調製し、それぞれ 20 μ L を HPLC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 20 μ L を HPLC に注入し、5 の検量線でカルベンダジム及びチオファネー

トの含量を求める。チオファネートの含量に係数 0.52 を掛けてカルベンダジムに換算したものとカルベンダジム含量の和を分析値とする。

7 . 確認試験

LC/MS で確認する。

8 . 測定条件

1) HPLC

検出器：FL (励起波長 285 nm、蛍光波長 315 nm)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 5 μm) 内径 4.6 mm、長さ 150 ~ 250 mm

カラム温度：50

移動相：アセトニトリル及び水 (3 : 7) 混液

注入量：20 μL

保持時間の目安：カルベンダジム 6分

エチル 2 - ベンゾイミダゾールカルバマート 10分

2) LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 3 ~ 5 μm) 内径 2.0 ~ 4.6 mm、長さ 150 ~ 250 mm

カラム温度：50

移動相：アセトニトリル及び水 (3 : 7) 混液

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (m/z): 229、192、160

注入量：20 μL

保持時間の目安：カルベンダジム 7分

9 . 定量限界

穀類、豆類、種実類、果実、野菜及びハーブ：0.01 mg/kg (カルベンダジムとして)

抹茶及びホップ：0.04 mg/kg (カルベンダジムとして)

抹茶以外の茶：0.1 mg/kg (カルベンダジムとして)

10 . 留意事項

1) 試験法の概要

カルベンダジム、チオファネート、チオファネートメチル及びペノミルを試料からメタノールで抽出し、*n*-ヘキサンで洗浄した後、塩基性下で酢酸エチル及び *n*-ヘキサン

(1 : 1) 混液に転溶する。この間にメタノールによりベノミルはカルベンダジム (メチル 2 - ベンゾイミダゾールカルバマート : MBC) に変化する。次いで、酢酸及び酢酸銅溶液中で加熱還流 (閉環反応) し、チオファネートメチルをカルベンダジムに、チオファネートを (エチル 2 - ベンゾイミダゾールカルバマート : EBC) に変換する。カルベンダジム及び EBC を酸性下で酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液で洗浄した後、塩基性下で酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液で抽出し、抹茶及びホップ以外の作物ではそのまま、抹茶及びホップの場合はエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、HPLC-FL で測定し、LC/MS で確認する方法である。チオファネートの含量に係数 0.52 を掛け、カルベンダジムに換算し、カルベンダジムの含量と合わせる。

2) 注意点

抽出時の酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液への転溶は、pH 8 以上で行う。

閉環反応後の酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液による抽出は pH 7 ~ 8 で行う。

カルベンダジム、チオファネート及びチオファネートメチルは閉環反応における回収率が低いため、検量線は閉環反応を行ったカルベンダジム及びチオファネートを用いて作成する。120 で閉環反応を行った場合の回収率は、カルベンダジムが約 73%、チオファネートメチルが約 60% である。したがって、チオファネートメチルの残留が疑われる場合は、チオファネートメチル標準品について閉環反応を行い、生成したカルベンダジムを用いて検量線を作成することが望ましい。

閉環反応における温度制御は、油浴あるいはアルミ製ヒートブロック等を用いて行うことが可能である。

1 1 . 参考文献

1) 環境省告示第 161 号「ベノミル試験法」(昭和 49 年 12 月 23 日)

2) 環境省告示第 40 号「チオファネートメチル試験法」(昭和 51 年 6 月 11 日)

1 2 . 類型

C

カルボスルファン、カルボフラン、フラチオカルブ及びベンフラカルブ試験法(農産物)

1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
カルボスルファン	カルボスルファン カルボフラン 2,3 - ジヒドロ - 2,2 - ジメチル - 3 - ヒドロキシ - 7 - ベンゾフランイル N-メチルカルバマート (以下「3 OH - カルボフラン」という) 3 OH - カルボフラン配糖体
カルボフラン	カルボフラン 3 OH - カルボフラン 3 OH - カルボフラン配糖体
フラチオカルブ	フラチオカルブ カルボフラン 3 OH - カルボフラン 3 OH - カルボフラン配糖体
ベンフラカルブ	ベンフラカルブ カルボフラン 3 OH - カルボフラン 3 OH - カルボフラン配糖体

2. 装置

アルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ (GC-FTD) 又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ (GC-NPD)

ガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC/MS)

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

5%含水シリカゲル カラムクロマトグラフィー用シリカゲル (粒径63~200 μm) を130℃で12時間以上加熱した後、デシケーター中で放冷する。これに5%含水となるよう水を加える。

グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) 内径12~13 mmのポリエチレン製のカラムに、グラファイトカーボン500 mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性

を有するもの。

リン酸緩衝液 (pH 8) 1/15 mol/Lのリン酸緩衝液 (pH 8)

カルボスルファン標準品 本品はカルボスルファン99%以上を含む。

カルボフラン標準品 本品はカルボフラン99%以上を含み、融点は153~154 である。

フラチオカルブ標準品 本品はフラチオカルブ99%以上を含む。

ベンフラカルブ標準品 本品はベンフラカルブ99%以上を含む。

3 OH - カルボフラン標準品 本品は3 OH - カルボフラン99%以上を含む。

4 . 試験溶液の調製

1) カルボスルファン、カルボフラン、フラチオカルブ及びベンフラカルブ試験溶液 抽出

a . 穀類、豆類及び種実類の場合

試料10.0 gを量り採り、0.1 mol/L硝酸銀溶液 2 mL及びリン酸緩衝液 (pH 8) 20 mLを加え、2時間放置する。

これにアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。ろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に200 mLとする。この100 mLを採り、40 以下で約20 mLに濃縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 1) 混液100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。

この残留物に*n*-ヘキサン50 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル50 mLずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 5 mLを加えて溶かす。

b . 果実、野菜、ハーブ、茶及びホップの場合

果実、野菜及びハーブの場合は、検体約 1 kgを精密に量り、リン酸緩衝液 (pH 8) 1,000 mLを加え、細切均一化する。検体20.0 gに相当する量を量り採る。

茶及びホップの場合は、試料5.00 gを量り採り、リン酸緩衝液 (pH 8) 20 mLを加え、2時間放置する。

これに0.1 mol/L硝酸銀溶液 2 mL及びアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過を行う。ろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に200 mLとする。この100 mLを採り、40 以下で約20 mLに濃縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 1) 混液100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液

を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 5 mLを加えて溶かす。

精製

a . グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) に酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに で得られた溶液を注入し、さらに、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液15 mLを注入し、全溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (3 : 7) 混液 5 mLを加えて溶かす。

b . アミノプロピルシリル化シルカゲルカラムクロマトグラフィー

アミノプロピルシリル化シルカゲルミニカラム (360 mg) に酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (3 : 7) 混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに a . で得られた溶液を注入し、さらに、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (3 : 7) 混液10 mLを注入し、全溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、正確に 2 mL (穀類、豆類及び種実類の場合は 1 mL) としたものを試験溶液とする。

2) 3 OH - カルボフラン試験溶液

抽出

穀類、豆類、種実類、茶及びホップの場合は、試料 5.00 g を量り採り、0.25 mol/L塩酸150 mLを加え、冷却管を取り付け、1時間加熱還流する。

果実、野菜及びハーブの場合は、検体約 1 kgを精密に量り、リン酸緩衝液 (pH 8) 1,000 mLを加え、細切均一化する。検体10.0 g に相当する試料に0.32 mol/L塩酸150 mLを加え、冷却管を取り付け、1時間加熱還流する。

放冷後、冷却管を少量の水で洗い、洗液を加熱分解液に合わせ、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を0.25 mol/L塩酸50 mLで洗い、ろ液を合わせ、これに塩化ナトリウム60 gを加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (2 : 3) 混液10 mLを加えて溶かす。

精製

クロマトグラフ管 (内径15 mm) に 5 % 含水シリカゲル10 g を酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (2 : 3) 混液に懸濁させて充てんし、無水硫酸ナトリウム約 5 g を積層する。このカラムに、 で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、酢酸エチル及び *n*-

ヘキサン（2：3）混液120 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、同混液200 mLを注入し、溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、正確に2 mL（穀類、豆類及び種実類の場合は1 mL、茶及びホップの場合は4 mL）としたものを試験溶液とする。

5．検量線の作成

カルボスルファン、カルボフラン、フラチオカルブ及びベンフラカルブ標準品については、それぞれのアセトン溶液を調製し、それらを同一の割合で混合した後、それぞれ0.05～1 mg/Lアセトン溶液を数点調製する。3 OH - カルボフラン標準品については、0.05～1 mg/Lアセトン溶液を数点調製する。それぞれ2 μLをGCに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6．定量

試験溶液2 μLをGCに注入し、5の検量線でカルボスルファン、カルボフラン、フラチオカルブ、ベンフラカルブ及び3 OH - カルボフランの含量を求め、カルボフランについては、次式 により、3 OH - カルボフランを含むカルボフラン含量を求める。

カルボスルファン、フラチオカルブ及びベンフラカルブが検出された場合は、それぞれ次式 ~ により、カルボフラン及び3 OH - カルボフランを含むカルボスルファン、フラチオカルブ及びベンフラカルブ含量を求める。

カルボフラン（代謝物を含む）の含量 = カルボフランの含量 + 3 OH - カルボフランの含量 × 0.93

カルボスルファン（代謝物を含む）の含量 = カルボスルファンの含量 + カルボフランの含量 × 1.72 + 3 OH - カルボフランの含量 × 1.60

フラチオカルブ（代謝物を含む）の含量 = フラチオカルブの含量 + カルボフランの含量 × 1.73 + 3 OH - カルボフランの含量 × 1.61

ベンフラカルブ（代謝物を含む）の含量 = ベンフラカルブの含量 + カルボフランの含量 × 1.85 + 3 OH - カルボフランの含量 × 1.73

7．確認試験

GC/MS により確認する。

8．測定条件

1) GC

カルボスルファン、カルボフラン、フラチオカルブ及びベンフラカルブの試験
検出器：FTD又はNPD

カラム：50%フェニル - メチルシリコン、内径0.53 mm、長さ15 m、膜厚 1 μ m

カラム温度：180 (5分) - 15 /分 - 250 (5分)

注入口温度：260

検出器温度：280

保持時間の目安：カルボフラン 4.5分、カルボスルファン 10分、フラチオカルブ 11.5分、ベンフラカルブ 12.5分

3 OH - カルボフランの試験

検出器：FTD又はNPD

カラム：50%フェニル - メチルシリコン、内径0.53 mm、長さ15 m、膜厚 1 μ m

カラム温度：200

注入口温度：260

検出器温度：280

保持時間の目安：4.5分

2) GC/MS

カルボスルファン、カルボフラン、フラチオカルブ及びベンフラカルブの試験

カラム：5%フェニル - メチルシリコン、内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μ m

カラム温度：100 (1分) - 10 /分 - 280 (15分)

注入口温度：250

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード(電圧)：EI(70 eV)

主なイオン (m/z)：カルボフラン； 221、164、149、カルボスルファン； 323、160、118、フラチオカルブ； 382、194、163、ベンフラカルブ； 353、190、163

注入量：1 μ L

保持時間の目安：カルボフラン 11分、カルボスルファン 18分、フラチオカルブ 18.5分、ベンフラカルブ 19.5分

3 OH - カルボフランの試験

カラム：5%フェニル - メチルシリコン、内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μ m

カラム温度：100 (1分) - 10 /分 - 280 (15分)

注入口温度：250

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード(電圧)：EI(70 eV)

主なイオン (m/z)：180、147、137

注入量：1 μ L

保持時間の目安：8分

9. 定量限界

カルボスルファン、カルボフラン、フラチオカルブ、ベンフラカルブ、3OH-カルボフラン：各 0.01 mg/kg (茶及びホップの場合は、0.04 mg/kg)

10. 留意事項

1) 試験法の概要

本法はカルボスルファン等4農薬(カルボスルファン、カルボフラン、フラチオカルブ、ベンフラカルブ)及びそれらの共通の変化生成物である3OH-カルボフランを分析対象とした方法である。

カルボスルファン等4農薬については、試料からアセトンで抽出し、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン混液に転溶する。果実、野菜、ハーブ、茶及びホップはそのまま、穀類、豆類及び種実類はアセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、グラファイトカーボンミニカラム及びアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムにより精製し、GC-FTD又はGC-NPDで測定し、GC/MSで確認する方法である。

3OH-カルボフランについては、作物中で配糖体として存在している可能性があるため、試料に塩酸を加えて加熱還流し、配糖体を3OH-カルボフランに加水分解する。酢酸エチル及び*n*-ヘキサン混液に転溶した後、シリカゲルカラムにより精製し、GC-FTD又はGC-NPDで測定し、GC/MSで確認する方法である。

2) 注意点

カルボスルファン、フラチオカルブ及びベンフラカルブの各化合物は、加水分解を受けやすく、分析値も変動しやすいので、抽出から試験溶液の作成までを速やかに、かつ正確に行う必要がある。

各化合物は熱安定性が低いので、内径0.53 mmのカラムの使用が望ましい。

カルボスルファン等4農薬の試験溶液の調製において、精製が不十分な場合は、シリカゲルカラム(5 g)[試料溶液を負荷した後、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン(3:17)混液 80 mLで溶出]やオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(1,000 mg)[試料溶液を負荷した後、アセトニトリル及び水(3:7)混液10 mLで洗浄、アセトニトリル10 mLで溶出]による精製を追加するとよい。

GC/MS測定では、食品の品目によっては感度が大幅に高まる場合がある。

LC/MSを用いて測定する方法もあるので、概略を記す。抽出液の一部(0.2 g相当)をリン酸緩衝液で希釈し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(360 mg:メタノールで溶出)⁴⁾、グラファイトカーボンミニカラム(500 mg:アセトニトリル及びトルエン(3:1)混液で溶出)⁵⁾又はスチレンジビニルベンゼン共重合体

ミニカラム（500 mg：テトラヒドロフランで溶出）⁶⁾で精製し、メタノール、アセトニトリル又はテトラヒドロフラン（2～10 mL）に溶解し、試験溶液とする。

1 1 . 参考文献

- 1) 環境省告示第78号「カルボスルファン試験法」（昭和59年10月31日）
- 2) 環境省告示第45号「ベンフラカルブ試験法」（昭和61年10月28日）
- 3) 環境省告示第73号「フラチオカルブ試験法」（平成7年11月28日）
- 4) 東田ら、第29回日本農薬学会（2004年3月、神戸）
- 5) 東田、私信（2004年4月）
- 6) 藤田、私信（2004年5月）

1 2 . 類型

C

シアン化水素試験法（農産物）

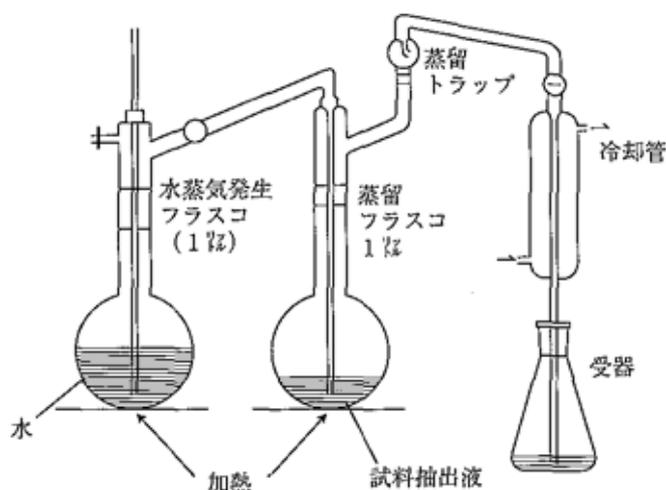
1．分析対象化合物

シアン化水素

2．装置

シアン化水素水蒸気蒸留装置 図に示すものを用いる。

図



3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

塩化ナトリウム 塩化ナトリウム（容量分析用標準試薬）

0.02 mol/L 硝酸銀標準液 硝酸銀 16.99 g を水に溶かして 1 L とし、0.1 mol/L 塩化ナトリウム溶液を用いて標定し、これを希釈したもの

炭酸ナトリウム・酢酸鉛試液 炭酸ナトリウム 200 g と酢酸鉛 20 g を別々に水に溶かし、混合して 1 L としたもの

4．試験溶液の調製

試料 100 g をシアン化水素水蒸気蒸留装置の蒸留フラスコ（容量 1 L）に量り採り、水を加えて約 250 mL とし、10%酒石酸溶液 50 mL を加える。冷却器の下端を 2.5%水酸化ナトリウム溶液 250 mL を入れた受器の液中に浸し、蒸留フラスコに水蒸気を送り込み、留出液が 400～500 mL になるまで蒸留する。受器中の溶液を採り、*n*-ヘキサン 20 mL を加え、1 分間振とうした後、水層を分取する。更に *n*-ヘキサン層に水 50 mL を加え、上記と同様に振とう及び分取を行う。水層を合わせ、これによく振り混ぜた炭

酸ナトリウム・酢酸鉛試液を加え、沈殿が生じない場合はそのままこれを試験溶液とする。

沈殿が生じた場合は、ろ紙を用いて吸引ろ過し、必要があれば更に毎分 3,000 回転で約 30 分間遠心分離し、上澄み液をろ紙を用いて吸引ろ過し、遠心管内の残留物を蒸留水 30 mL で洗う。その洗液で、ろ紙上の残留物を洗い、洗液とろ液を合わせてこれを試験溶液とする。

5 . 定量

4 で得られた試験溶液にアンモニア水 10 mL 及び 2 % ヨウ化カリウム溶液 10 mL を加えて、0.02 mol/L 硝酸銀標準液で滴定し、かすかながら消えない濁りが生ずるまでに要した 0.02 mol/L 硝酸銀標準液の量を A mL とする。別に空試験を行い、滴定に要した 0.02 mol/L 硝酸銀標準液の量を B mL とする。シアン化水素の濃度 (mg/kg) を次式により算出する。

試料中のシアン化水素の濃度 (mg/kg) = (A - B)(mL) × 1.08 × 1,000 / 試料重量 (g)

6 . 定量限界

1 mg/kg

7 . 留意事項

1) 試験法の概要

酸性下で水蒸気蒸留し、発生したシアン化水素を水酸化ナトリウム溶液で捕集する。留出液中のシアニオンを硝酸銀で滴定し、白沈が生じた時点を終点とする。

硝酸銀の添加により、CN⁻ は可溶性の Ag (CN)₂⁻ となるが、CN⁻ が消費されると AgI の沈殿が生じる。



8 . 類型

A (環境省告示「シアン化水素試験法」)

ジノカップ試験法（農産物）

1．分析対象化合物

ジノカップ、ジノカップ分解物（2，4 - ジニトロ - 6 - オクチルフェノール（以下、「2,4-DNOP」という。）及び2，6 - ジニトロ - 4 - オクチルフェノール（以下、「2,6-DNOP」という。））

2．装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

3．試薬・試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

1 mol/L リン酸緩衝液（pH 6.9） リン酸一カリウム 68.0 g 及びリン酸二ナトリウム 71.0 g に水を加えて溶かし、1,000 mL とする。

ジノカップ標準品 本品はジノカップ 92% 以上を含み、融点は 138 ~ 140 である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

穀類の場合は、試料 10.0 g に水 20 mL を加え、2 時間放置する。果実及び野菜の場合は、試料 10.0 g を量り採る。

これにアセトニトリル 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物をアセトニトリル 20 mL で洗浄、ろ過し、ろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とする。この 20 mL を採り、塩化ナトリウム 10 g 及び 1 mol/L リン酸緩衝液（pH 6.9）20 mL を加え、10 分間振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。

2) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）にアセトニトリル 10 mL を注入し、流出液は捨てる。これに 1) で得られたアセトニトリル溶液を注入し、さらに、アセトニトリル 4 mL を注入して、全溶出液を採り、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。

3) 加水分解

2) で得られた残留物をメタノール 2 mL に溶解し、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 10 mL を加え、1 分間振とうし、30 分間放置する。反応液に 1.2 mol/L 塩酸 10 mL を加え、*n*-ヘキサン 20 mL ずつで 2 回振とう抽出する。この抽出液に、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶解し、正確に 10 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ジノカップ標準品の 100 mg/L メタノール溶液を調製し、この 2 mL を採り、4.3) と同様の操作を行い、その残留物にメタノールを加えて溶かし、10 mL とし、ジノカップ分解物 (2,4-DNOP 及び 2,6-DNOP) のメタノール溶液とする。これをメタノールで希釈し、ジノカップとして 0.002 ~ 0.2 mg/L の標準溶液を数点調製し、それぞれ 10 µL を LC/MS に注入する。各異性体の濃度 (ジノカップとしての値) を横軸にとり、ピーク高法又はピーク面積法で各異性体毎に検量線を作成する。

各異性体の濃度は、フラグメントイオンが生じない *m/z* 295 の条件で測定して得られた 4 本の異性体ピークの高さ比又は面積比を各異性体の存在比として算出する。

6. 定量

試験溶液 10 µL を LC/MS に注入し、各異性体ピークの高さ又は面積を用いて、5 の検量線でジノカップ分解物の各異性体の含量を求め、合算してジノカップの含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS により確認する。

8. 測定条件

LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 5 µm)、内径 2 mm、長さ 150 mm

カラム温度：40

移動相：0.1% ギ酸及びメタノール混液 (2 : 8) を 1 分間送液した後、(2 :

8) から (1 : 9) までの濃度勾配を 2 分間で行い、(1 : 9) で 17 分間送液する。次いで、(1 : 9) から (2 : 8) までの濃度勾配を 2 分間で行い、(2 : 8) で 13 分間送液する。

イオン化モード：ESI (-)

主なイオン (m/z) : 209、295

保持時間の目安：4 本の異性体ピーク 9 ~ 11 分

9 . 定量限界

0.01 mg/kg

10 . 留意事項

1) 試験法の概要

ジノカップ及びジノカップ分解物 (2,4-DNOP 及び 2,6-DNOP) を試料からアセトニトリルで抽出し、塩析で水を除いた後、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製後、アルカリで加水分解し、ジノカップをジノカップ分解物に変換する。酸性下でジノカップ分解物を *n*-ヘキサンで抽出し、LC/MS で測定及び確認する方法である。

2) 注意点

通常、室温 30 分間放置の条件で、アルカリ加水分解の反応が完結するが、標準溶液等は、HPLC-UV 又は GC/MS を用いて、ジノカップの未反応物が存在していないことを確認する。ジノカップは HPLC-UV で測定可能であり、ジノカップ及びジノカップ分解物は GC/MS でも測定可能であるが、いずれも感度が低いいため、残留分析には使用できない。

ジノカップ分解物の m/z 295 での測定は、農産物の種類によっては夾雑物ピークのために定量が困難であることから、夾雑物ピークが少ない m/z 209 (フラグメントイオン) で測定及び定量を行う。

ジノカップは異性体 (6 種) の混合物である。本測定条件でジノカップ分解物として 4 本のピークが検出される。ジノカップ分解物の分子量は 296.3 であり、LC/MS (m/z 295) による測定時の異性体ピークの面積比は HPLC-UV (260 nm) による測定時とほぼ等しいが、フラグメントイオンである m/z 209 で測定した場合は、HPLC-UV (260 nm) 測定による面積比とは異なる。そこで、LC/MS (m/z 209) で測定し、異性体ピーク高さ又は面積の総和で定量すると、標準品と残留物の異性体組成比が異なる場合、誤差を生じるおそれがあるため、各異性体毎

に定量した値を合計して分析値とする。

夾雑物ピークによる妨害が認められた場合は、試験溶液を適宜希釈して測定を行う。

1 1 . 参考文献

1) 環境省告示第 20 号「ジノカップ試験法」(平成 9 年 4 月 30 日)

2) 農薬残留分析法研究班編「最新農薬の残留分析法」p.228-229、中央法規出版(1995)

1 2 . 類型

C

ダゾメット、メタム及びメチルイソチオシアネート試験法（農作物）

1．分析対象化合物

ダゾメット

メタム

メタムアンモニウム塩

メタムカリウム塩

メタムナトリウム塩

メチルイソチオシアネート

2．装置

アルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ（GC-FTD）又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ（GC-NPD）

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

ディーン・スターク蒸留装置

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

メチルイソチオシアネート標準品 本品はメチルイソチオシアネート 99%以上を含み、融点は35～36 である。

液相分離ろ紙 化学分析用ろ紙をシリコン処理したもの

4．試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、種実類、果実、野菜、ハーブ及び抹茶の場合

試料 50.0 g（抹茶の場合は 10.0 g）をディーン・スターク蒸留装置の丸底フラスコに量り採り、水 500 mL、酢酸エチル 20 mL 及び消泡剤 1 mL を加え、40 分間加熱還流する。終了後、トラップ内の水層及び酢酸エチル層を分液ロートに採り、塩化ナトリウム 15 g を加えて振とうする。静置した後、酢酸エチル層を採り、液相分離ろ紙を用いてろ過する。ろ液に酢酸エチルを加えて正確に 20 mL としたものを試験溶液とする。

抹茶以外の茶の場合

試料 12.0 g を 100 の水 720 mL に浸し、室温で5分間放置した後、ろ過する。冷後ろ液 540 mL をディーン・スターク蒸留装置の丸底フラスコに量り採り、酢酸エチル 20 mL 及び消泡剤 1 mL を加え、40 分間加熱還流する。終了後、トラップ内の水層及び酢酸エチル層を採り、塩化ナトリウム 15 g を加えて振とうする。静置した後、酢酸エチ

ル層を採り、液相分離ろ紙を用いてろ過する。ろ液に酢酸エチルを加えて正確に 20 mL としたものを試験溶液とする。

5．検量線の作成

メチルイソチオシアネート標準品を酢酸エチルに溶解して調製した標準原液を酢酸エチルで希釈し、0.01～0.5 mg/L の標準溶液を数点調製する。それぞれ 5 μ L を GC に注入し、ピーク高法で検量線を作成する。

6．定量

試験溶液 5 μ L を GC に注入し、5 の検量線でメチルイソチオシアネートの含量を求める。

7．確認試験

GC/MS により確認する。

8．測定条件

1) GC

検出器：FTD 又は NPD

カラム：ポリエチレングリコール又はトリフルオロプロピルメチルシリコン 内径 0.53 mm、長さ 30m、膜厚 1.0 μ m

カラム温度：60

注入口温度：250

検出器温度：250

注入量：5 μ L

保持時間の目安：ポリエチレングリコールカラムの場合は 4 分、トリフルオロプロピルメチルシリコンカラムの場合は 1.5 分

2) GC/MS

カラム：ポリエチレングリコール 内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μ m

カラム温度：60 (1分) - 15 /分 - 220 (2分)

イオン化モード(電圧)：EI (70 eV)

主なイオン (m/z): 73、72

注入量：2 μ L

保持時間の目安：5 分

9．定量限界

0.01 mg/kg (茶は 0.05 mg/kg)

10 . 留意事項

1) 試験法の概要

ダゾメット、メタム及びメチルイソチオシアネートを試料からディーン・スターク蒸留装置を用いて抽出し、GC-FTD 又は GC-NPD で定量し、GC/MS で確認する方法である。加熱還流中にダゾメット及びメタムはメチルイソチオシアネートに変化する。

2) 注意点

試料に水を加えた状態で pH を調べ、酸性またはアルカリ性に偏っている場合は、あらかじめ中和してから、蒸留操作を行う。

GC-FPD (S) では、メチルイソチオシアネートの検出感度が低いので、FTD 又は NPD を用いる。

オレンジの測定には、トリフルオロプロピルメチルシリコンカラムが適している。ポリエチレングリコールカラムでは、メチルイソチオシアネートの前に負のピークが出現し、定量に影響する。

11 . 参考文献

- 1) 環境省告示第 35 号「メチルイソチオシアネート試験法」(平成 2 年 4 月 10 日)
- 2) 環境省告示第 93 号「ダゾメット試験法」(平成 2 年 11 月 7 日)
- 3) 環境省告示第 73 号「カーバムナトリウム塩試験法」(平成 7 年 11 月 28 日)

12 . 類型

C

チオジカルブ及びメソミル試験法（農産物）

1．分析対象化合物

チオジカルブ

メソミル

メチルチオアセトヒドロキサマート（メソミルオキシム）

2．装置

アルカリ熱イオン型検出器付きガスクロマトグラフ（GC-FTD）、高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ（GC-NPD）又は炎光光度型検出器付きガスクロマトグラフ（GC-FPD（S））及びガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS）を用いる。

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

メソミルオキシム標準品 本品は、メソミルオキシム 98%以上を含み、融点は 93.5 である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、豆類、種実類、果実、野菜及びハーブの場合

穀類、豆類及び種実類の場合は、試料 20.0 g に水 40 mL を加え、2 時間放置する。

果実、野菜及びハーブの場合は、試料 20.0 g を量り採る。

これにアセトン 100 mL を加え、30 分間振とうした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン 50 mL を加え、上記と同様に振とう及びろ過を行う。得られたろ液を合わせ、40 以下で 40 mL に濃縮する。

これに水 50 mL、0.5 mol/L 硫酸 5 mL、塩化ナトリウム 20 g 及び *n*-ヘキサン 50 mL を加え、5 分間振とうした後、水層を分取する。この水層に *n*-ヘキサン 50 mL を加え、上記と同様に振とう及び分取を行う。

分取した水層を酢酸エチル 100 mL ずつで 3 回振とう抽出する。酢酸エチル層を合わせ、2% ジエチレングリコール・アセトン溶液 0.1 mL を加え、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。

茶の場合

試料 5.00 g に水 20 mL を加え、2 時間放置する。これにアセトン 100 mL を加え、30 分間振とうした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン 50 mL を加え、上記と同様に振とう及びろ過を行う。得られたろ液を合わせ、40 以下で 30 mL に濃縮する。

これに水 50 mL 及び飽和酢酸鉛溶液 2 mL を加え、軽く振り混ぜた後、吸引ろ過する。

水 50 mL でろ紙上の残留物を洗い、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、0.5 mol/L 硫酸 5 mL、塩化ナトリウム 30 g 及び *n*-ヘキサン 50 mL を加え、5 分間振とうした後、水層を分取する。この水層に *n*-ヘキサン 50 mL を加え、上記と同様に振とう及び分取を行う。

分取した水層を酢酸エチル 100 mL ずつで 3 回振とう抽出する。酢酸エチル層を合わせ、2 % ジエチレングリコール・アセトン溶液 0.1 mL を加え、40 °C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。

2) 加水分解

1) で得られた残留物に 4 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 20 mL を加えて溶かし、空冷管を付して 85 °C で 30 分間加熱する。冷後、0.5 mol/L 硫酸 100 mL を加え、酢酸エチル 100 mL で 1 回、50 mL ずつで 2 回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液に 2 % ジエチレングリコール・アセトン溶液 0.1 mL を加え、40 °C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトンを加えて溶かし、正確に 2 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

メソミルオキシム標準品の 0.05 ~ 1 mg/L アセトン溶液を数点調製する。それぞれ 2 µL を GC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 2 µL を GC に注入し、5 の検量線でメソミルオキシムの含量を求める。

メソミルオキシムの含量に 1.54 を掛けたものをチオジカルブ及びメソミルオキシムを含むメソミルの含量とする。

7. 確認試験

GC/MS により確認する。

8. 操作条件

GC

検出器：FTD、NPD 又は FPD (S)

カラム：ポリエチレングリコール、内径 0.2 ~ 0.7 mm、長さ 10 ~ 30m、膜厚 0.1 ~ 1.5 µm

カラム温度：50 (2 分) - 2 ~ 20 /分 - 280

注入口温度：200 ~ 270

検出器温度：280 ~ 300

キャリアーガス：窒素又はヘリウム、線速度 20～40 cm/秒

9 . 定量限界

0.01 mg/kg (茶は 0.04 mg/kg)

10 . 留意事項

1) 試験法の概要

チオジカルブ、メソミル及びメソミルオキシムを試料からアセトンで抽出し、酸性下で *n*-ヘキサンで洗浄した後、酢酸エチルで抽出する。抽出物をアルカリで加水分解し、チオジカルブ及びメソミルをメソミルオキシムに変換した後、GC-FTD、GC-NPD 又は GC-FPD (S) で定量し、GC/MS で確認する方法である。なお、メソミルオキシムの含量に係数を掛けてメソミルに換算した値を分析値とする。

2) 注意点

11 . 参考文献

1) 上路雅子ら、2002 年度版「残留農薬分析法」487 頁、ソフトサイエンス社

12 . 類型

A (環境省告示第 27 号「チオジカルブ試験法」平成 7 年 4 月 26 日)

ヒメキサゾール試験法（農産物）

1．分析対象化合物

ヒメキサゾール

2．装置

アルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ（GC-FTD）又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ（GC-NPD）
ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

ヒメキサゾール標準品 本品はヒメキサゾール99%以上を含み、融点は86～87℃である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合

試料10.0gを量り採り、水20mLを加え、2時間放置する。

これにアセトニトリル50mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトニトリル20mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加え、正確に100mLとする。この20mLを採り、*n*-ヘキサン30mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30mLずつで3回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で約20mLに濃縮する。

これに塩化ナトリウム10g及び0.01mol/L塩酸15mLを加え、10分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層と水層をそれぞれ分取する。アセトニトリル層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別する。一方の水層を多孔性ケイソウ土カラム（20mL保持用）に注入し、15分間放置した後、酢酸エチル100mLを注入する。溶出液を先のアセトニトリル層と合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を酢酸エチルに溶解し、正確に1mLとする。

果実、野菜、ハーブ、茶及びホップの場合

果実、野菜及びハーブの場合は、試料20.0gを量り採る。茶及びホップの場合は、5.00gを量り採り、水20mLを加え、2時間放置する。

これにアセトニトリル50mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトニトリル20mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。

得られたる液を合わせ、アセトニトリルを加え、正確に 100 mL とする。この 20 mL を採り、塩化ナトリウム 10 g 及び 0.01 mol/L 塩酸 15 mL を加えて 10 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層と水層をそれぞれ分取する。アセトニトリル層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別する。一方の水層を多孔性ケイソウ土カラム (20 mL 保持用) に注入し、15 分間放置した後、酢酸エチル 100 mL を注入する。溶出液を先のアセトニトリル層と合わせ、40 °C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を酢酸エチルに溶解し、果実、野菜及びハーブの場合は、正確に 2 mL、茶及びホップの場合は、正確に 0.5 mL とする。

2) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) に、酢酸エチル 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られた溶液 0.5 mL を注入した後、酢酸エチル 5 mL を注入し、溶出液を 40 °C 以下で濃縮し、正確に 0.5 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ヒメキサゾール標準品の 0.02 ~ 1 mg/L 酢酸エチル溶液を数点調製し、それぞれ 1 µL を GC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 1 µL を GC に注入し、5 の検量線でヒメキサゾールの含量を求める。

7. 確認試験

GC/MS により確認する。

8. 測定条件

1) GC

検出器：FTD 又は NPD

カラム：ニトロテレフタル酸修飾ポリエチレングリコール、内径 0.32 mm、長さ 15 m、膜厚 0.50 µm

カラム温度：60 (2分) - 20 °C/分 - 180 (0分) - 5 °C/分 - 200

注入口温度：230

検出器温度：230

キャリアーガス：ヘリウム

保持時間の目安：7.5 分

2) GC/MS

カラム：5%フェニル-メチルシリコン、内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μ m

カラム温度：50 (1分) - 25 /分 - 125 (0分) - 10 /分 - 250

注入口温度：250

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード(電圧)：EI (70 eV)

主なイオン (m/z)：99

注入量：1 μ L

保持時間の目安：6.5 分

9. 定量限界

0.02 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

ヒメキサゾールを試料からアセトニトリルで抽出し、塩析する。アセトニトリル層と水層に分け、水層を多孔性ケイソウ土カラムに負荷して酢酸エチルでヒメキサゾールを溶出する。酢酸エチル溶出液とアセトニトリル層を合わせて、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製し、GC-FTD 又は GC-NPD で測定し、GC/MS で確認する方法である。

2) 注意点

GC 測定において試料注入口での吸着・転移が起こりやすいので、ガラスインサートは不活性度が高いものを使用する。また、油脂を多く含む試料の場合は特に吸着が起こりやすいので、これらの試料を測定した場合は感度低下に注意し、必要に応じてガラスインサートを交換する等の措置を施す。

ヒメキサゾールは揮発性が高いので、減圧濃縮は溶液が数 mL 程度残る程度で止め、その後窒素気流下で溶媒を除去する。このとき乾固させないように十分注意する。また、キーパーを使用してもよいが、ポリエチレングリコールは GC 注入口での吸着を起こす原因となることがあるので使用を避けた方がよい。

窒素気流下における濃縮操作では、損失の原因となるので溶液に渦がでるほど窒素を吹きつけたり、乾固させないようにすること。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムによる精製後の濃縮操作は窒素気流下で行う。

8の2)GC/MS に示した条件では、濃度が低い時、トータルイオンクロマトグラム上でピークが確認できない場合があるので、試験溶液をさらに濃縮するか又は1)

GC に示したカラムで測定する等の方法で対応する。

1 1 . 参考文献

1) 環境庁告示第 28 号「ヒメキサゾール試験法」(昭和 53 年 5 月 12 日)

2) 中村ら 三共研究所年報、28、130-141 (1976)

1 2 . 類型

C

フェンチン試験法（農産物）

1．分析対象化合物

フェンチン（トリフェニルスズ）
水酸化トリフェニルスズ
酢酸トリフェニルスズ
塩化トリフェニルスズ

2．装置

炎光光度型検出器（スズ用干渉フィルター）付きガスクロマトグラフ（GC-FPD（Sn））
ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

フェンチン標準品 本品は水酸化トリフェニルスズ98%以上を含み、融点は123℃である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

豆類及び種実類の場合

試料10.0gを量り採り、水20mLを加え、2時間放置する。

これに6mol/L塩酸1mL及びアセトン100mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mLを加え、ホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。ろ液を合わせ、40℃以下で約30mLに濃縮する。

これに10%塩化ナトリウム溶液200mLを加え、*n*-ヘキサン100mL及び50mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

この残留物に*n*-ヘキサン20mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル40mLずつで3回振とう抽出する。抽出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸及び*n*-ヘキサン（3：97）混液を加えて溶かし、正確に10mLとする。

穀類、果実、野菜、ハーブ、茶及びホップの場合

穀類の場合は、試料10.0gを量り採り、水20mLを加え、2時間放置する。

果実、野菜及びハーブの場合は、試料20.0gを量り採る。

茶及びホップの場合は、試料5.00gを量り採り、水20mLを加え、2時間放置する。

これに6mol/L塩酸1mL及びアセトン100mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。ろ液を合わせ、40℃以下で約30mLに濃縮する。

これに 10%塩化ナトリウム溶液 200 mL を加え、*n*-ヘキサン 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸及び *n*-ヘキサン (3 : 97) 混液を加えて溶かし、正確に 10 mL とする。

2) エチル化

1) で得られた溶液 1 mL (茶の場合は 2 mL) を採り、3 mol/L エチルマグネシウムブロミド・エーテル溶液 1 mL (茶の場合は 2 mL) を加え、室温で 20 分間放置する。

これに 0.5 mol/L 硫酸 10 mL を徐々に加え、次いで水 10 mL を加えて混和する。この溶液を *n*-ヘキサン 10 mL、5 mL 及び 5 mL で 3 回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で 2 mL に濃縮する。

3) 精製

クロマトグラフ管 (内径 15 mm) に、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム 5 g を *n*-ヘキサンに懸濁させて充てんし、無水硫酸ナトリウム約 5 g を積層する。このカラムに 2) で得られた溶液を注入した後、*n*-ヘキサン 15 mL をカラムに注入する。次いで、エーテル及び *n*-ヘキサン (1 : 99) 混液 50 mL を注入し、全溶出液を合わせ、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて溶かし、正確に 1 mL (果実、野菜及びハーブの場合は 2 mL) としたものを試験溶液とする。

5 . 検量線の作成

酢酸及び *n*-ヘキサン (3 : 97) 混液を用いて、フェンチン標準品の 0.02 ~ 1 mg/L 溶液を数点調製し、4 の 2) エチル化と同様に操作した後、2 μ L を GC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6 . 定量

試験溶液 2 μ L を GC に注入し、5 の検量線で水酸化トリフェニルスズの含量を求め、水酸化トリフェニルスズの含量に係数 0.95 を掛けてフェンチンに換算したものを分析値とする。

7 . 確認試験

GC/MS により確認する。

8 . 測定条件

GC

検出器：FPD (Sn)

カラム：メチルシリコン 内径 0.32 mm、長さ 25 m、膜厚 1.0 μm

カラム温度：120 (1分) - 10 /分 - 200 - 20 /分 - 300 (5分)

注入口温度：280

検出器温度：300

キャリアーガス：ヘリウム

保持時間の目安：12~15分

9 . 定量限界

0.02 mg/kg

10 . 留意事項

1) 試験法の概要

フェンチンを試料から、塩酸酸性下でアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。次いで、穀類、果実、野菜、ハーブ、茶及びホップについてはそのまま、豆類及び種実類についてはアセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、エチルマグネシウムブロミドでエチル化する。合成ケイ酸マグネシウムカラムで精製した後、GC-FPD (Sn) で測定し、GC/MS で確認する方法である。

2) 注意点

フェンチンの標準品としては、水酸化トリフェニルスズ以外に、酢酸トリフェニルスズ及び塩化トリフェニルスズが市販されている。標準品として酢酸トリフェニルスズ又は塩化トリフェニルスズを使用した場合にもそれぞれ係数を掛けてフェンチンの含量に換算する。

エチルマグネシウムブロミドによるエチル化の後、硫酸を加える際には、激しく発泡するため、徐々に加える。

本試験法は、酸化フェンブタスズにも適用可能である。但し、抹茶以外の茶については熱湯抽出を行う必要があるため、本法は適用できない。

11 . 参考文献

厚生労働省監修、食品衛生検査指針 残留農薬編、392~401、2003、(社)日本食品衛生協会

12 . 類型

C

ベンゾビシクロン試験法

1. 分析対象化合物

ベンゾビシクロン

2. 装置

紫外分光光度型検出器付高速液体クロマトグラフ (HPLC-UV)

液体クロマトグラフ・質量分析計 (LC/MS)

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム (500 mg) 内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に、スチレンジビニルベンゼン共重合体 500 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

ベンゾビシクロン標準品 本品はベンゾビシクロン 99%以上を含み、融点は 188 ~ 189 である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料 10.0 g に 0.15 mol/L リン酸溶液 20 mL を加え、2 時間放置する。これにアセトニトリル 100 mL を加え、30 分間振とう抽出した後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトニトリル 50 mL を加え、振とう及びろ過の操作を繰り返す。得られたろ液を合わせて、40 以下で約 20 mL に濃縮する。

2) 精製

スチレンジビニルベンゼン共重合体カラムクロマトグラフィー

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム (500 mg) にアセトニトリル 5 mL 及び水 5 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに1)で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、アセトニトリル及び水 (2 : 3) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及び水 (4 : 1) 混液 10 mL を注入し、溶出液に水 10 mL を加える。

多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィー

多孔性ケイソウ土カラム (20 mL 保持用) に得られた溶出液を注入し、次いで、酢酸エチル 120 mL を注入する。溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトン、酢酸及び *n*-ヘキサン (1 : 0.2 : 19) 混液 5 mL に溶かす。

シリカゲルカラムクロマトグラフィー

シリカゲルミニカラム (690 mg) にアセトン、酢酸及び *n*-ヘキサン (1 : 0.2 : 19) 混液 5 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに同混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン、酢酸及び *n*-ヘキサン (2 : 0.05 : 3) 混液 20 mL を注入し、溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル 5 mL に溶かす。

トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にアセトニトリル 5 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに で得られた溶液を注入し、アセトニトリル 10 mL を注入する。溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水 (1 : 1) 混液に溶かし、正確に 2 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ベンゾピシクロン標準品の 500 mg/L アセトニトリル溶液を調製し、アセトニトリル及び水 (1 : 1) 混液で希釈し、0.05 ~ 1 mg/L 溶液を数点調製する。それぞれ 20 µL を HPLC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 20 µL を HPLC に注入し、5 の検量線でベンゾピシクロンの含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS により確認する。

8. 測定条件

HPLC

検出器：波長 320 nm

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル、内径 2 ~ 6 mm、長さ 150 ~ 300 mm

カラム温度：40

移動相：アセトニトリル、水及びリン酸 (3 : 2 : 0.005) 混液

流量：1 mL/min

保持時間の目安：10 ~ 15 分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10 . 留意事項

1) 試験法の概要

ベンゾピシクロンを試料から酸性下でアセトニトリル抽出し、スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム、多孔性ケイソウ土カラム、シリカゲルミニカラム及びトリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製する。HPLC-UV で測定し、LC/MS で確認する方法である。

2) 注意点

本法は玄米を対象とした試験法である。

ベンゾピシクロンは加水分解されやすいので、試料は出来るだけ保存しないで直ちに分析すること。

11 . 参考文献

12 . 類型

A (環境省告示第 31 号「ベンゾピシクロン試験法」平成 13 年 4 月 26 日)

メタミトロン試験法（農産物）

1．分析対象化合物

メタミトロン

2．装置

紫外分光光度型検出器付液体クロマトグラフ（HPLC-UV）

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

メタミトロン標準品 本品はメタミトロン 98%以上を含み、融点は 167 である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

試料 20.0 g に 1 mol/L 塩酸 1 mL 及びアセトン 100 mL を添加し、30 分間振とう抽出する。ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ紙上の残留物にアセトン 50 mL を加えて、上記と同様に操作する。得られたろ液を合わせ、40 以下で 20 mL 以下に濃縮する。

この溶液を多孔性ケイソウ土カラム（20 mL 保持用）に注入し、10 分間放置する。*n*-ヘキサン 50 mL をカラムに注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル 120 mL を注入し、溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を酢酸エチル及び *n*-ヘキサン（1：4）混液 5 mL に溶かす。

2) 精製

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）に酢酸エチル 5 mL 及び *n*-ヘキサン 5 mL を順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られた溶液を注入する。酢酸エチル及び *n*-ヘキサン（1：4）混液 5 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン（3：2）混液 20 mL を注入する。溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水（1：4）混液に溶かし、正確に 4 mL としたものを試験溶液とする。

5．検量線の作成

メタミトロン標準品の 100 mg/L アセトニトリル溶液を調製し、これをアセトニトリル及び水（1：4）混液で希釈し、0.05～1 mg/L 溶液を数点調製する。それぞれ 20 μ L を HPLC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6．定量

試験溶液 20 μ L を HPLC に注入し、5 の検量線でメタミトロンの含量を求める。

7．確認試験

LC/MS により確認する。

8．測定条件

HPLC

検出器：UV（波長 310 nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル、内径 2～6 mm、長さ 150～300 mm

カラム温度：40

移動相：アセトニトリル及び水（1：4）混液

保持時間の目安：10～15 分

9．定量限界

0.01 mg/kg

10．留意事項

1) 試験法の概要

試料中のメタミトロンをアセトンで抽出し、多孔性ケイソウ土カラム及びアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製する。HPLC-UV で測定し、LC/MS で確認する方法である。

2) 注意点

本法はてんさいを対象とした試験法である。

メタミトロンは塩基性条件下では不安定なので、抽出時に酸を添加する。

11．参考文献

1) 今月の農業編集室編 改定 4 版「農薬登録保留基準ハンドブック」p. 915、化学工業日報社（2003）

12．類型

A（環境省告示第 83 号「メタミトロン試験法」平成 14 年 12 月 24 日）

-BHC (リンデン)、BHC、DDT、アルドリン、エタルフルラリン、エトリジアゾール、エンドリン、キントゼン、クロルデン、ジコホール、ディルドリン、テクナゼン、テトラジホン、テフルトリン、トリフルラリン、ハルフェンプロックス、フェンプロパトリン、ヘキサクロロベンゼン、ヘプタクロール、ベンフルラリン及びメトキシクロール試験法 (農産物)

1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
-BHC (リンデン)	-BHC (リンデン)
BHC (- BHC、 - BHC、 - BHC 及び - BHC の総和をいう。)	- BHC、 - BHC、 - BHC、 - BHC
DDT (DDD 及び DDE を含む。)	<i>pp'</i> - DDD、 <i>pp'</i> - DDE、 <i>pp'</i> - DDT、 <i>op'</i> - DDT
アルドリン及びディルドリン (総和をいう。)	アルドリン、ディルドリン
エタルフルラリン	エタルフルラリン
エトリジアゾール	エトリジアゾール
エンドリン	エンドリン
キントゼン	キントゼン
クロルデン	<i>trans</i> - クロルデン、 <i>cis</i> - クロルデン
ジコホール	ジコホール
テクナゼン	テクナゼン
テトラジホン	テトラジホン
テフルトリン	テフルトリン
トリフルラリン	トリフルラリン
ハルフェンプロックス	ハルフェンプロックス
フェンプロパトリン	フェンプロパトリン
ヘキサクロロベンゼン	ヘキサクロロベンゼン
ヘプタクロール	ヘプタクロール、ヘプタクロールエポキシド
ベンフルラリン	ベンフルラリン
メトキシクロール	メトキシクロール

2. 装置

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ及びガスクロマトグラフ・質量分析計を用いる。

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の 2 に示すものを用いる。

- BHC 標準品 本品は - BHC99%以上を含む。
融点 本品の融点は 157 ~ 159 である。

- BHC 標準品 本品は - BHC98%以上を含む。
融点 本品の融点は 308 ~ 310 である。

- BHC 標準品 本品は - BHC99%以上を含む。
融点 本品の融点は 112 ~ 114 である。

- BHC 標準品 本品は - BHC95%以上を含む。
融点 本品の融点は 137 ~ 140 である。

pp' - DDD 標準品 本品は *pp'* - DDD98%以上を含む。
融点 本品の融点は 108 ~ 110 である。

pp' - DDE 標準品 本品は *pp'* - DDE99%以上を含む。
融点 本品の融点は 88 ~ 90 である。

op' - DDT 標準品 本品は *op'* - DDT98%以上を含む。
融点 本品の融点は 73 ~ 75 である。

pp' - DDT 標準品 本品は *pp'* - DDT99%以上を含む。
融点 本品の融点は 108 ~ 110 である。

アルドリン標準品 本品はアルドリン 97%以上を含む。
融点 本品の融点は 102 ~ 104 である。

エタルフルラリン標準品 本品はエタルフルラリン 98%以上を含む。
融点 本品の融点は 55 ~ 56 である。

エトリジアゾール標準品 本品はエトリジアゾール 98%以上を含む。
融点 本品の融点は 20 である。

キントゼン標準品 本品はキントゼン 98%以上を含む。
融点 本品の融点は 143 ~ 144 である。

trans - クロルデン標準品 本品は *trans* - クロルデン 98%以上を含む。
融点 本品の融点は 104 ~ 105 である。

cis - クロルデン標準品 本品は *cis* - クロルデン 98%以上を含む。
融点 本品の融点は 106 ~ 107 である。

ジコホール標準品 本品はジコホール 95%以上を含む。
融点 本品の融点は 73 ~ 76 である。

ディルドリン標準品 本品はディルドリン 98%以上を含む。
融点 本品の融点は 177 ~ 179 である。

テクナゼン標準品 本品はテクナゼン 98%以上を含む。
融点 本品の融点は 98 である。

テトラジホン標準品 本品はテトラジホン 98%以上を含む。
融点 本品の融点は 146 である。

テフルトリン標準品 本品はテフルトリン 98%以上を含む。
融点 本品の融点は 44 ~ 45 である。

トリフルラリン標準品 本品はトリフルラリン 98%以上を含む。

融点 本品の融点は 46 ~ 50 である。

ハルフェンプロックス標準品 本品はハルフェンプロックス 99%以上を含む。

沸点 本品の沸点は 291 である。

フェンプロパトリン標準品 本品はフェンプロパトリン 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 45 ~ 50 である。

ヘキサクロロベンゼン標準品 本品はヘキサクロロベンゼン 98%以上を含む。

融点 本品の融点は 226 である。

ヘプタクロール標準品 本品はヘプタクロール 98%以上を含む。

融点 本品の融点は 95 ~ 96 である。

ヘプタクロールエポキシド標準品 本品はヘプタクロールエポキシド 98%以上を含む。

ベンフルラリン標準品 本品はベンフルラリン 98%以上を含む。

融点 本品の融点は 65 ~ 67 である。

メトキシクロール標準品 本品はメトキシクロール 98%以上を含む。

融点 本品の融点は 89 である。

4 . 試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合

検体を 420 μ m の標準網ふるいを通して粉砕した後、その 10.0 g を量り採り、水 20 mL を加え、2 時間放置する。

これにアセトン 100 mL を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン 50 mL を加え、3 分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で約 30 mL に濃縮する。

これをあらかじめ 10% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗に移す。*n* - ヘキサン 100 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n* - ヘキサン層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に *n* - ヘキサン 50 mL を加え、上記と同様に操作して、*n* - ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。*n* - ヘキサン 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で *n* - ヘキサンを除去する。

この残留物に *n* - ヘキサン 20 mL を加え、100 mL の分液漏斗に移す。これに *n* - ヘキサン飽和アセトニトリル 40 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。*n* - ヘキサン層に *n* - ヘキサン飽和アセトニトリル 40 mL を加え、上記と同様の操作を 2 回繰り返す、アセトニト

リル層をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下でアセトニトリルを除去する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて溶かし、正確に 5 mL とする。

果実、野菜、ハーブ、抹茶及びホップの場合

果実、野菜及びハーブの場合は、検体約 1 kg を精密に量り、必要に応じ適量の水を量つて加え、細切均一化した後、検体 20.0 g に相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、検体 5.00 g を量り採り、水 20 mL を加えて 2 時間放置する。

ホップの場合は、検体を粉碎した後、その 5.00 g を量り採り、水 20 mL を加え、2 時間放置する。

これにアセトン 100 mL を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン 50 mL を加え、3 分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で約 30 mL に濃縮する。

これをあらかじめ 10% 塩化ナトリウム溶液 100 mL 入れた 300 mL の分液漏斗に移す。*n*-ヘキサン 100 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に *n*-ヘキサン 50 mL を加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで *n*-ヘキサン 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で *n*-ヘキサンを除去する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて溶かし、正確に 10 mL とする。

抹茶以外の茶の場合

検体 9.00 g を 100 の水 540 mL に浸し、室温で 5 分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液 360 mL を 500 mL の三角フラスコに移す。これにアセトン 100 mL 及び飽和酢酸鉛溶液 2 mL を加え、室温で 1 時間静置した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ液を 1,000 mL の分液漏斗に移す。次いでアセトン 50 mL を用いて上記の三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う。洗液を上記の分液漏斗に合わせる。

これに塩化ナトリウム 30 g 及び *n*-ヘキサン 100 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に *n*-ヘキサン 100 mL を加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで *n*-ヘキサン 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で *n*-ヘキサンを除去する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて溶かし、正確に 5 mL とする。

2) 精製

内径 15 mm、長さ 300 mm のクロマトグラフ管に、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム 10 g を *n*-ヘキサンに懸濁させたもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約 5 g を入れ、カラムの上端に少量の *n*-ヘキサンが残る程度まで *n*-ヘキサンを流出させる。このカラムに 1) 抽出で得られた溶液 2 mL を注入した後、エーテル及び *n*-ヘキサン (3 : 17) 混液 200 mL を注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40 以下でエーテル及び *n*-ヘキサンを除去する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて溶かし、正確に 2 mL として、これを試験溶液とする。

5 . 操作法

1) 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果がいずれの操作条件においても標準品と一致しなければならない。ただし、ジコホールの試験を行う場合においては、次の操作条件 1 で試験を行う。

操作条件 1

カラム 内径 0.25 mm、長さ 10 ~ 30 m のケイ酸ガラス製の細管に、ガスクロマトグラフィー用メチルシリコンを 0.25 μ m の厚さでコーティングしたもの。

カラム温度 50 で 1 分間保持し、その後毎分 25 で昇温する。175 に到達後、毎分 10 で昇温し、300 に到達後 5 分間保持する。

試験溶液注入口温度 230

検出器 300 で操作する。

ガス流量 キャリヤーガスとしてヘリウムを用いる。アルドリンが約 10 分で流出する流速に調整する。

操作条件 2

カラム 内径 0.25 mm、長さ 10 ~ 30 m のケイ酸ガラス製の細管に、ガスクロマトグラフィー用 14%シアノプロピルフェニル - メチルシリコンを 0.25 μ m の厚さでコーティングしたもの。

カラム温度 80 で 2 分間保持し、その後毎分 30 で昇温する。190 に到達後、毎分 3.6 で昇温し、250 に到達後 8 分間保持する。

試験溶液注入口温度 230

検出器 300 で操作する。

ガス流量 キャリヤーガスとしてヘリウムを用いる。アルドリンが約 10 分で流出する流速に調整する。

2) 定量試験

1) 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

3) 確認試験

1) 定性試験と同様の操作条件でガスクロマトグラフィー・質量分析を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。また、必要に応じ、ピーク高法又はピーク面積法

により定量を行う。

6 . 定量限界

- BHC (リンデン) 0.01 mg/kg
- アルドリン 0.005 mg/kg
- エタルフルラリン 0.01 mg/kg
- エトリジアゾール 0.01 mg/kg
- エンドリン 0.005 mg/kg
- キントゼン 0.01 mg/kg
- クロルデン 0.01 mg/kg
- ディルドリン 0.005 mg/kg
- テクナゼン 0.01 mg/kg
- テトラジホン 0.01 mg/kg
- テフルトリン 0.01 mg/kg
- ヘキサクロロベンゼン 0.01 mg/kg
- ヘプタクロール 0.01 mg/kg
- ベンフルラリン 0.01 mg/kg
- メトキシクロール 0.01 mg/kg
- トリフルラリン 0.005 mg/kg
- ハルフェンプロックス 0.02 mg/kg (茶にあっては 0.1 mg/kg)
- フェンプロパトリン 0.01 mg/kg

7 . 留意事項

BHC は、*p,p'*-BHC、*o,p'*-BHC、*p,p'*-BHC 及び *o,p'*-BHC のそれぞれについて定量を行い、これらの和を分析値とすること。

DDT は、*pp'*-DDD、*pp'*-DDE、*pp'*-DDT、*op'*-DDT のそれぞれについて定量を行い、これらの和を分析値とすること。

アルドリン及びディルドリンは、アルドリン及びディルドリンのそれぞれについて定量を行い、これらの和を分析値とすること。

クロルデンは *trans*-クロルデン及び *cis*-クロルデンのそれぞれについて定量を行い、これらの和を分析値とすること。

ヘプタクロールはヘプタクロール及びヘプタクロールエポキシドのそれぞれについて定量を行い、これらの和を分析値とすること。

抹茶以外の茶について、テトラジホンの試験を行う場合は、4 . 試験溶液の調製、抹茶以外の茶の場合 に従う。それら以外の農薬の試験を行う場合は、抹茶以外の茶を粉砕したものについて 果実、野菜、ハーブ、抹茶及びホップの場合 の抹茶に従って操作する。

なお、定量限界は、使用する装置、試験溶液の濃縮倍率及び試験溶液注入量により異

なるので、必要に応じて最適条件を検討する。

8．参考文献

なし

9．類型

A

2,4 - D、2,4 - DB 及びクロプロップ試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
2,4 - D	2,4 - D、2,4 - D ナトリウム塩、2,4 - D ジメチルアミン塩、 2,4 - D エチル、2,4 - D イソプロピル、2,4 - D ブトキシエチ ル、2,4 - D アルカノールアミン塩
2,4 - DB	2,4 - DB、2,4 - DB ナトリウム塩、2,4 - DB ブチル、 2,4 - DB ジメチルアンモニウム塩、2,4 - DB イソオクチル
クロプロップ	クロプロップ

2. 装置

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ及びガスクロマトグラフ・質量分析計を用いる。

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の 2 に示すものを用いる。

ブチルエステル化剤 三フッ化ホウ素エーテル錯体 10 g を *n* - ブタノール 25 mL に溶かす。

2,4 - D 標準品 本品は 2,4 - D 99% 以上を含む。

融点 本品の融点は 138 である。

2,4 - DB 標準品 本品は 2,4 - DB 98% 以上を含む。

融点 本品の融点は 117 ~ 119 である。

クロプロップ標準品 本品はクロプロップ 98% 以上を含む。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合

検体を 420 μ m の標準網ふるいを通して粉砕した後、その 10.0 g を量り採り、水 20 mL を加え、2 時間放置する。

これにアセトン 100 mL 及び 4 mol/L 塩酸 5 mL を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン 50 mL を加え、3 分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で約 30 mL に濃縮する。

これをあらかじめ 10% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗に移す。酢酸エチル 100 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏

斗に合わせる。振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を300 mLの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル50 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで酢酸エチル20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で約1 mLに濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。

この残留物に*n*-ヘキサン30 mLを加え、100 mLの分液漏斗に移す。これに*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を200 mLの分液漏斗に移す。*n*-ヘキサン層に*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLを加え、上記と同様の操作を2回繰り返し、アセトニトリル層を上記の分液漏斗に合わせる。これにアセトニトリル飽和*n*-ヘキサン50 mLを加え、軽く振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移し、40℃以下で約1 mLに濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。

果実、野菜、ハーブ及びホップの場合

果実、野菜及びハーブの場合は、検体約1 kgを精密に量り、必要に応じ適量の水を量つて加え、細切均一化した後、検体20.0 gに相当する量を量り採る。

ホップの場合は、検体5.00 gを量り採り、水20 mLを加えて、2時間放置する。

これにアセトン100 mL及び4 mol/L塩酸5 mLを加え、3分間細砕した後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン50 mLを加え、3分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で約30 mLに濃縮する。

これをあらかじめ10%塩化ナトリウム溶液100 mLを入れた300 mLの分液漏斗に移す。酢酸エチル100 mLを用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を300 mLの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル50 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで酢酸エチル20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で約1 mLに濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。

2) 加水分解

1) 抽出で得られた残留物にメタノール20 mLを加えて溶かし、100 mLのナス型フラスコに移し、1.5 mol/L水酸化ナトリウム溶液10 mLを加える。これに還流冷却器を取り付けて、80℃の水浴中で30分間加熱した後、放冷する。これをすり合わせ減圧濃縮器中に移し、40℃以下で大部分のメタノールを除去する。この残留物をガラスろ過器(細孔記号G3)を

用いて吸引ろ過し、ろ液を 300 mL の分液漏斗()に移す。ガラスろ過器上の残留物を少量のアセトン及び水を用いて洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。これにエーテル 50 mL 及び 10%塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、水層を 300 mL の分液漏斗()に移す。これに 4 mol/L 塩酸を加えて pH 1 以下に調整し、酢酸エチル 50 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル 50 mL を加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで酢酸エチル 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う。洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で約 1 mL に濃縮する。

3) ブチルエステル化

2) 加水分解で得られた溶液を 20 mL のナス型フラスコに移し、更に室温で窒素気流下で乾固した後、ブチルエステル化剤 1 mL を加える。上記のナス型フラスコに還流冷却器を取り付けて、90 の水浴中で 30 分間加熱した後、放冷する。これをあらかじめ 10%塩化ナトリウム溶液 50 mL 及び *n*-ヘキサン 50 mL を入れた 200 mL の分液漏斗に移し、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を 200 mL の三角フラスコに移す。水層に *n*-ヘキサン 50 mL を加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで *n*-ヘキサン 10 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う。洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で約 2 mL に濃縮する。

4) 精製

内径 15 mm、長さ 300 mm のクロマトグラフ管に、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム 5 g を *n*-ヘキサンに懸濁したものを、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約 5 g を入れ、カラムの上端に少量の *n*-ヘキサンが残る程度まで *n*-ヘキサンを流出させる。このカラムに 3)ブチルエステル化で得られた溶液を注入した後、エーテル及び *n*-ヘキサン(3:17)混液 150 mL を注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40 以下で約 1 mL に濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて溶かし、正確に 2 mL として、これを試験溶液とする。

5. 操作法

1) 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品について、4.試験溶液の調製の 3)ブチルエステル化と同様に操作して得られたものと一致しなければならない。

操作条件

カラム 内径 0.25 mm、長さ 30mのケイ酸ガラス製の細管に、ガスクロマトグラフィー用

5%フェニル・メチルシリコンを0.25 μmの厚さでコーティングしたもの。

カラム温度 50 で1分間保持し、その後毎分25 で昇温する。125 に到達後、毎分10で昇温し、300 に到達後5分間保持する。

試験溶液注入口温度 260

検出器 300 で操作する。

ガス流量 キャリヤーガスとして窒素又はヘリウムを用いる。

2) 定量試験

1) 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

3) 確認試験

1) 定性試験と同様の操作条件でガスクロマトグラフィー・質量分析を行う。試験結果は標準品について、4. 試験溶液の調製の3) ブチルエステル化と同様に操作して得られたものと一致しなければならない。また、必要に応じ、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

6. 定量限界

2,4 - D 0.005 mg/kg (穀類にあつては0.01 mg/kg)

2,4 - DB 及びクロプロップ 0.01 mg/kg (GC/MS 使用時)

7. 留意事項

1) 本法は、2,4 - D、2,4 - DB 及びクロプロップを同時分析するために、既通知の2,4 - D 試験法を改良したものである。改良点は、合成ケイ酸マグネシウムカラムに試料溶液を負荷した後の、エーテル及び *n* - ヘキサン (1 : 19) 混液 50 mL による洗浄操作を省いたこと、最終試験溶液を 2 mL としたこと、である。

2) 2,4 - D は塩基性で水溶性となるため、抽出時には酸性に保つ必要があること。また、ブチルエステル化の際には、酢酸エチルの除去を行うこと。

3) 特にクロプロップは GC - ECD における感度が低いため、定性及び定量には GC/MS の使用が推奨される。測定に用いる主なイオン (*m/z*) は、2,4 - DB : 231、クロプロップ : 256。

8. 参考文献

なし

9. 類型

A

アセフェート、オメトエート及びメタミドホス試験法（農作物）

1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
アセフェート	アセフェート
オメトエート	オメトエート
メタミドホス	メタミドホス

2. 装置

炎光光度型検出器（リン用干渉フィルター、波長 526 nm）付きガスクロマトグラフ及びガスクロマトグラフ・質量分析計を用いる。

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の 2 に示すものを用いる。

アセフェート標準品 本品はアセフェート 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 90～91 である。

オメトエート標準品 本品はオメトエート 99%以上を含む。

メタミドホス標準品 本品はメタミドホス 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 44.5 である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、豆類、果実、野菜、ハーブ、種実類、抹茶及びホップの場合

穀類、豆類及び種実類の場合は、検体を 420 μm の標準網ふるいを通して粉砕した後、その 20.0 g を量り採り、水 20 mL を加え、2 時間放置する。

果実、野菜及びハーブの場合は、検体約 1 kg を精密に量り、必要に応じ適量の水を量つて加え、細切均一化した後、検体 20.0 g に相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、検体 5.00 g を量り採り、水 20 mL を加え、2 時間放置する。

ホップの場合は、検体を粉砕した後、その 5.00 g を量り採り、水 20 mL を加え、2 時間放置する。

これに酢酸エチル 150 mL 及び無水硫酸ナトリウム 150 g を加え、5 分間細砕した後、すり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。次いで酢酸エチル 40 mL を用いてろ紙上の残留物を洗う操作を 3 回繰り返す。これらの洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で約 10 mL に濃縮する。

抹茶以外の茶の場合

検体 9.00 g を 100 の水 540 mL に浸し、室温で 5 分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液 60 mL

を量り採る。これに酢酸エチル 150 mL 及び無水硫酸ナトリウム 200 g を加え、5 分間細砕した後、すり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。次いで酢酸エチル 40 mL を用いて紙上の残留物を洗う操作を 3 回繰り返す。これらの洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で約 10 mL に濃縮する。

2) 精製

内径 15 mm、長さ 300 mm のクロマトグラフ管に、カラムクロマトグラフィー用シリカゲル（粒径 63~200 μm ）10 g を酢酸エチルに懸濁したもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約 5 g を入れ、カラムの上端に少量の酢酸エチルが残る程度まで酢酸エチルを流出させる。このカラムに 1) 抽出で得られた溶液を注入した後、酢酸エチル 100 mL を注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン 100 mL を注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40 以下で大部分のアセトンを除去する。この残留物にアセトンを加えて溶かし、正確に 5 mL（茶の場合は 2 mL）として、これを試験溶液とする。

5. 操作法

1) 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム 内径 0.53 mm、長さ 15 m のケイ酸ガラス製の細管に、ガスクロマトグラフィー用 50%トリフルオロプロピル - メチルシリコンを 1.0 μm の厚さでコーティングしたもの。

カラム温度 100 で 1 分間保持し、その後毎分 10 で昇温し、180 に到達後 5 分間保持する。

試験溶液注入口温度 220

検出器 250 で操作する。

ガス流量 キャリヤーガスとしてヘリウムを用いる。アセフェートが約 7 分で流出する流速に調整する。空気及び水素の流量を至適条件に調整する。

2) 定量試験

1) 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

3) 確認試験

1) 定性試験と同様の操作条件でガスクロマトグラフィー・質量分析を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。また、必要に応じ、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

6. 定量限界

アセフェート 0.01 mg/kg（茶にあっては 0.1 mg/kg）

オメトエート 0.01 mg/kg（茶にあっては 0.05 mg/kg）

メタミドホス 0.01 mg/kg (茶及びホップにあつては 0.05 mg/kg)

7. 留意事項

1) 抹茶以外の茶について、アセフェートの試験を行う場合は、4. 試験溶液の調製、抹茶以外の茶の場合に従う。オメトエート及びメタミドホスの試験を行う場合は、抹茶以外の茶を粉碎したものについて 穀類、豆類、果実、野菜、ハーブ、種実類、抹茶及びホップの場合の抹茶に従って操作する。

8. 参考文献

なし

9. 類型

A