

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

ネライストキシシン、ネライストキシシンシュウ酸塩

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3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。

ネライストキシシンシュウ酸塩標準品 本品はネライストキシシンシュウ酸塩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

(1) 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。

(2) 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。

(3) 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。

(4) 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 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4 µLをGCに注入し、5の検量線でネライストキシ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15 m、膜厚1 μm

カラム温度：70°C（1分） $-8^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -160°C （5分）

注入口温度：250°C

検出器温度：280°C

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°C（1分） $-10^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -280°C （5分）

注入口温度：250°C

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

(1) 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シンに変換し、ネライストキシ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。

- (2) 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ロ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。
- (3) 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°C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。
- (4) 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。
- (5) 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30 m、カラム温度 80°C (1分) -8°C/分-160°C)
- カラム2 : ポリエチレングリコール(内径0.53 mm、長さ30 m、カラム温度80°C (1分) -15°C/分-200°C)
- (6) 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)。

11. 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「チオシクロラム試験法」(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)

12. 類型

