

(3) 2, 4, 5—T 試験法

1. 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。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第 2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトニトリル アセトニトリル 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトニトリルを除去する。この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし、その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

アセトン アセトン 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトンを除去する。この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし、その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

エーテル エチルエーテル 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、エチルエーテルを除去する。この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし、その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

塩化ナトリウム 塩化ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n—ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム カラムクロマトグラフィー用に製造した合成ケイ酸マグネシウム(粒径 150~250 μ m)を 130°Cで 12 時間以上加熱した後、デシケータ一中で放冷する。

ケイソウ土 化学分析用ケイソウ土を用いる。

酢酸エチル 酢酸エチル 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、酢酸エチルを除去する。この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし、その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

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

n—ヘキサン n—ヘキサン 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて 5mlに濃縮し、この 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

水 蒸留水を用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、*n*-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム 無水硫酸ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、*n*-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

メタノール メタノール 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、メタノールを除去する。この残留物を*n*-ヘキサン 5mlに溶かし、その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上の*n*-ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ -BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

3. 標準品

2, 4, 5-T 本品は 2, 4, 5-T98%以上を含む。

融点 本品の融点は 156°Cである。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 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 10.0g を量り採り、水 20ml を加え、2 時間放置する。

これにアセトン 100ml 及び 4mol/l 塩酸 5ml を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1cm 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 50ml 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°C 以下で約 30ml に濃縮する。

これをあらかじめ 10% 塩化ナトリウム溶液 100ml を入れた 300ml の分液漏斗に移す。酢酸エチル 100ml 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 300ml の三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル 50ml 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 20ml 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°C 以下で約 1ml 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 30ml を加え、100ml 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 30ml 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 200ml 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 30ml 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 50ml 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°C 以下で約 1ml に濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。

② 果実、野菜、抹茶及びホップの場合

果実及び野菜の場合は、検体約 1kg 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 20.0g に相当する量を量り採る。

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

これにアセトン 100ml 及び 4mol/l 塩酸 5ml を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1cm 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 50ml 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 30ml に濃縮する。

これをあらかじめ 10% 塩化ナトリウム溶液 100ml を入れた 300ml の分液漏斗に移す。酢酸エチル 100ml 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 300ml の三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル 50ml 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 20ml 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 1ml に濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。

③ 抹茶以外の茶の場合

検体 9.00g を 100℃の水 540ml に浸し、室温で 5 分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液 360ml を 500ml の三角フラスコに移す。これに塩化ナトリウム 18g 及び 4mol/l 塩酸を加えて pH1 以下に調整する。これをあらかじめ酢酸エチル 100ml を入れた 1,000ml 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、酢酸エチル層を 300ml の三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル 100ml 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 20ml 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 1ml に濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。

④ ①から③までに掲げる食品以外の食品の場合

①又は②の場合に準じて抽出を行う。

b 加水分解

a 抽出法で得られた残留物にメタノール 20ml を加えて溶かし、100ml のナス型フラスコに移し、1.5mol/l 水酸化ナトリウム溶液 10ml 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 300ml の分液漏斗(Ⅰ)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 50ml 及び 10%塩化ナトリウム溶液 100ml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 300ml の分液漏斗(Ⅱ)に移す。これに 4mol/l 塩酸を加えて pH1 以下に調整し、酢酸エチル 50ml 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 300ml の三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル 50ml 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 20ml 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 1ml に濃縮する。

c. ブチルエステル化

b 加水分解で得られた溶液を 20ml 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 1ml 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 50ml 及び n—ヘキサン 50ml を入れた 200ml 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 200ml の三角フラスコに移す。水層に n—ヘキサン 50ml 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 10ml 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 2ml に濃縮する。

d 精製法

内径 15mm、長さ 300mm 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 5g を n—ヘキサンに懸濁したもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約 5g 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 c. 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—ヘキサンの混液(1:19)50ml を注入し、流出液は捨てる。次いでエーテル及び n—ヘキサンの混液(3:17)150ml を注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下で約 1ml 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 10ml として、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 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 c. 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 0.25mm, 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 μ m の厚さでコーティングしたものをを用いる。

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

試験溶液注入口温度 260°C

検出器 300°C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。n—ブチル(2, 4, 5—トリクロロフェノキシ)アセテートが約 15分 で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 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。

c 確認試験

a 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. 試験溶液の調整の c. 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。

(4) アゾシクロチン及びシヘキサチン試験法

1. 装置

炎光光度型検出器(スズ用干渉フィルター, 波長 610nm)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。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は, 第 2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

なお, 「(特級)」と記載したものは, 日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトニトリル アセトニトリル 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し, アセトニトリルを除去する。この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし, その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき, ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは, 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

アセトン アセトン 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し, アセトンを除去する。この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし, その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき, ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは, 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

3mol/l エチルマグネシウムブロミド・エーテル溶液 3mol/l エチルマグネシウムブロミド・エーテル溶液

エーテル エチルエーテル 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し, エチルエーテルを除去する。この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし, その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガス

クロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

塩化ナトリウム 塩化ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n—ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム カラムクロマトグラフィー用に製造した合成ケイ酸マグネシウム(粒径 150~250 μ m)を 130°Cで 12 時間以上加熱した後、デシケータ一中で放冷する。

ケイソウ土 化学分析用ケイソウ土を用いる。

シヘキサチン標準溶液 シヘキサチン 10.0mg に酢酸及び酢酸エチルの混液(1:99)を加えて 100ml とし、この 10ml を採り、n—ヘキサンを加えて 100ml とする。

ドデシル硫酸ナトリウム 純度 85%以上の試薬を用いる。

n—ヘキサン n—ヘキサン 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて 5mlに濃縮し、この 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

水 蒸留水を用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n—ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム 無水硫酸ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n—ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

3. 標準品

シヘキサチン 本品はシヘキサチン 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 195~198°Cである。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 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 10.0g を量り採り、水 20ml を加え、2 時間放置する。

これにアセトン及び酢酸の混液(99:1)100ml を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1cm 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、アセトン及び酢酸の混液(99:1)50ml 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°C以下で約 30ml に濃縮する。

これをあらかじめ 10%塩化ナトリウム溶液 200ml を入れた 500ml の分液漏斗に移す。n—ヘキサン 100ml 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 300ml の三角フラスコに移す。水層に n—ヘキサン 50ml 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 20ml 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 20ml を加え，100ml 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 40ml 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 40ml 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 5ml とする。

② 穀類，果実及び野菜の場合

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

果実及び野菜の場合は，検体約 1kg 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 20.0g に相当する量を量り採る。

これにアセトン及び酢酸の混液(99:1)100ml を加え，3 分間細砕した後，ケイソウ土を 1cm 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，アセトン及び酢酸の混液(99:1)50ml 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 30ml に濃縮する。

これをあらかじめ 10%塩化ナトリウム溶液 200ml を入れた 500ml の分液漏斗に移す。n—ヘキサン 100ml 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 300ml の三角フラスコに移す。水層に n—ヘキサン 50ml 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 20ml 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 10ml とする。

③ 抹茶及びホップの場合

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

これにアセトン及び酢酸の混液(99:1)100ml を加え，3 分間細砕した後，ケイソウ土を 1cm 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，アセトン及び酢酸の混液(99:1)50ml 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 30ml に濃縮する。

これをあらかじめ 10%塩化ナトリウム溶液 200ml を入れた 500ml の分液漏斗に移す。n—ヘキサン 100ml 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 300ml の三角フラスコに移す。水層に n—ヘキサン 50ml 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 20ml 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 5ml に濃縮し、これに n—ヘキサンを加えて正確に 10ml とする。

④ 抹茶以外の茶の場合

検体 9.00g を 100℃の水 540ml に浸し、室温で 5 分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液 360ml を 500ml の分液漏斗に移す。

これに塩化ナトリウム 30g, 2%ドデシル硫酸ナトリウム溶液 2ml 及び n—ヘキサン 100ml 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 300ml の三角フラスコに移す。水層に n—ヘキサン 100ml 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 20ml 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 6ml とする。

⑤ ①から④までに掲げる食品以外の食品の場合

①, ②又は③の場合に準じて抽出を行う。

b エチル化

a 抽出法で得られた溶液 1ml(穀類, 茶及びホップの場合は, 2ml)を 50ml の共栓付き試験管に採り, 3mol/l エチルマグネシウムブロミド・エーテル溶液 1ml(穀類, 茶及びホップの場合は, 2ml)を加え, 室温で 20 分間放置する。

これに 0.5mol/l 硫酸 10ml を徐々に加え, 次いで水 10ml を加えて混和する。これに n—ヘキサン 10ml を加え, 1 分間激しく振とうする。静置した後, n—ヘキサン層を 50ml の三角フラスコに移す。水層に n—ヘキサン 5ml を加え, 上記と同様の操作を 2 回繰り返し, 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 5ml 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 2ml に濃縮する。

c 精製法

内径 15mm, 長さ 300mm 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 5g 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 5g 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 b エチル化で得られた溶液を注入した後、n—ヘキサン 15ml で減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液をカラムに注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採る。次いでエーテル及び n—ヘキサンの混液(1:99)50ml を注入し、溶出液を上記の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 2ml として、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果はシヘキサチン標準溶液について 4. 試験溶液の調製の b エチ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。なお、アゾシクロチンはエチル化により、シヘキサチンと同一物質に変化する。

操作条件

カラム 内径 0.32~0.53mm, 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 1.5 μ m の厚さでコーティングしたものをを用いる。

カラム温度 120℃で 2 分間保持し、その後毎分 10℃で昇温する。200℃に到達後、毎分 20℃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 280℃

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。シヘキサチンが 13~15 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。

b 定量試験

a 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。

c 確認試験

a 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 b エチ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。

(5) アミトロール試験法

1. 装置

蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ及び液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第 2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトン アセトン 300ml をすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトンを除去する。この残留物を n—ヘキサン 5ml に溶かし、その 5 μ l を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上の n—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} g の γ —BHC が示すピークの高さ以下でなければならない。

エタノール エタノール 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、エタノールを除去する。

この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし、その 5μlを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gのγ—BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

ケイソウ土 化学分析用ケイソウ土を用いる。

酢酸緩衝液 0.05mol/l酢酸溶液 800mlに0.05mol/l酢酸ナトリウム溶液を加えて1,000mlとする。

弱酸性陽イオン交換樹脂 カラムクロマトグラフィー用に製造した弱酸性陽イオン交換樹脂を1mol/l塩酸を用いて洗い、次いで2.8%アンモニア水を用いて洗う。さらに1mol/l塩酸を用いて洗い、次いで水を用いて洗液が中性となるまで洗う。

フルオレスカミン 純度98%以上の試薬を用いる。

水 蒸留水を用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n—ヘキサン等の溶媒で洗浄したものをを用いる。

リン酸緩衝液 0.05mol/lリン酸—ナトリウム溶液に10%リン酸を加えてpH3.0に調整する。

3. 標準品

アミトロール 本品はアミトロール98%以上を含む。

融点 本品の融点は157~159℃である。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 穀類、豆類、種実類、果実、野菜、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420μmの標準網ふるいを通して粉砕した後、その30.0gを量り採る。

果実及び野菜の場合は、検体約1kg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30.0gに相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、検体30.0gを量り採る。

ホップの場合は、検体を粉砕した後、30.0gを量り採る。

これにエタノール80mlを加え、3分間細砕した後、ケイソウ土を1cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ液を200mlのメスシリンダーに移す。ろ紙上の残留物を採り、60%エタノール40mlを加え、3分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液を上記のメスシリンダーに合わせ、ろ液の容量を量る。

上記のろ液10mlを200mlの丸底フラスコに移し、過酸化水素水1mlを加える。これに還流冷却器を取り付けて75℃の水浴中で30分間加熱した後、放冷する。

② 抹茶以外の茶の場合

検体10.0gを100℃の水600mlに浸し、室温で5分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液12mlを200mlの丸底フラスコに移し、過酸化水素1mlを加える。これに還流冷却器を取り付けて75℃の水浴中で30分間加熱した後、放冷する。

③ ①及び②に掲げる食品以外の食品の場合

①の場合に準じて抽出を行う。

b 精製法

内径 10mm, 長さ 300mm のクロマトグラフ管に, 強酸性陽イオン交換樹脂(粒径 0.063~0.156 μm)1ml を水に懸濁したものを入れ, カラムの上端に少量の水が残る程度まで水を流出させる。このカラムに水 5ml を注入し, 流出液は捨てる。次いで a 抽出法で得られた溶液を注入した後, 水 10ml で上記の丸底フラスコを洗い, 洗液をカラムに注入し, 流出液は捨てる。次いで 2.8%アンモニア水 12ml を注入し, 溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り, n-プロパノール 30ml を加え, 45°C 以下で水及び n-プロパノールを除去する。この残留物に水 5ml を加えて溶かす。

内径 10mm, 長さ 300mm のクロマトグラフ管に, 弱酸性陽イオン交換樹脂(粒径 0.33~0.50 μm)5ml を水に懸濁したものを入れ, カラムの上端に少量の水が残る程度まで水を流出させる。このカラムに水 10ml を注入し, 流出液は捨てる。次いで上記の溶液を注入し, 流出液は捨てる。次いで水 50ml を注入し, 流出液は捨てる。更に 2.8%アンモニア水 35ml を注入し, 溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り, n-プロパノール 100ml を加え, 45°C 以下でアンモニア水及び n-プロパノールを除去する。

c 蛍光化

この残留物に酢酸緩衝液 2ml を加えて溶かす。この溶液 1ml に 0.25%フルオレスカミン・アセトン液 100 μl を加え, よく振り混ぜた後, 1 時間放置する。これに 0.05mol/l ホウ酸ナトリウム溶液 0.5ml を加え, これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 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 c 蛍光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

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 5 μm)を用いる。

カラム管 内径 4.6mm, 長さ 150mm のステンレス管を用いる。

カラム温度 40°C

検出器 励起波長 380nm, 蛍光波長 484nm で操作する。

移動相 アセトニトリル及びリン酸緩衝液の混液(3:7)を用いる。アミトロールが約 15 分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 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。

c 確認試験

a 定性試験と同様の操作条件で液体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 c. 蛍光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) カプタホール試験法

1. 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。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第 2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトニトリル アセトニトリル 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトニトリルを除去する。この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし、その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

アセトン アセトン 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトンを除去する。この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし、その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

塩化ナトリウム 塩化ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n—ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム カラムクロマトグラフィー用に製造した合成ケイ酸マグネシウム(粒径 150~250 μ m)を 130°Cで 12 時間以上加熱した後、デシケータ一中で放冷する。

ケイソウ土 化学分析用ケイソウ土を用いる。

酢酸エチル 酢酸エチル 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、酢酸エチルを除去する。この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし、その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

n—ヘキサン n—ヘキサン 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて 5mlに濃縮し、この 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

水 蒸留水を用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n—ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム 無水硫酸ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、*n*-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものをを用いる。

3. 標準品

カプタホール 本品はカプタホール 98%以上を含む。

融点 本品の融点は 159~161°Cである。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 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 10.0g を量り採り、3%リン酸溶液 20ml を加え、2 時間放置する。

これにアセトン 100ml を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1cm 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 50ml 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°C 以下で約 30ml に濃縮する。

これをあらかじめ 10%塩化ナトリウム溶液 100ml を入れた 300ml の分液漏斗に移す。*n*-ヘキサン 100ml 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 300ml の三角フラスコに移す。水層に *n*-ヘキサン 50ml 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 20ml 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°C 以下で *n*-ヘキサンを除去する。

この残留物に *n*-ヘキサン 30ml を加え、100ml 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 30ml 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 30ml 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その減圧濃縮器中に合わせ、40°C 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 5ml を加えて溶かす。

② 果実、野菜、抹茶及びホップの場合

果実及び野菜の場合は、検体約 1kg を精密に量り、10%リン酸溶液 500ml を加え、細切均一化した後、検体 20.0g に相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、検体 5.00g を量り採り、3%リン酸溶液 20ml 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、5.00g を量り採り、3%リン酸溶液 20ml を加え、2 時間放置する。

これにアセトン 100ml を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1cm 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 50ml 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 30ml に濃縮する。

これをあらかじめ 10%塩化ナトリウム溶液 100ml を入れた 300ml の分液漏斗に移す。n—ヘキサン 100ml 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 300ml の三角フラスコに移す。水層に n—ヘキサン 50ml 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 20ml 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 5ml を加えて溶かす。

③ 抹茶以外の茶の場合

検体 9.00g を 100℃の水 540ml に浸し、室温で 5 分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液 360ml を 500ml の三角フラスコに移す。

これにリン酸 30ml、アセトン 100ml 及び飽和酢酸鉛溶液 2ml を加え、室温で 1 時間放置した後、ケイソウ土を 1cm の厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ液を 1,000ml の分液漏斗に移す。次いでアセトン 50ml 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。洗液を上記の分液漏斗に合わせる。これに塩化ナトリウム 30g 及び n—ヘキサン 100ml 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 300ml の三角フラスコに移す。水層に n—ヘキサン 100ml 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 20ml 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 5ml を加えて溶かす。

④ ①から③までに掲げる食品以外の食品の場合

①又は②の場合に準じて抽出を行う。

b 精製法

内径 15mm、長さ 300mm 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 5g を n—ヘキサンに懸濁したもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約 5g 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 a 抽出法で得られた溶液を注入した後、n—ヘキサン 100ml を注入し、流出液は捨てる。次いで酢酸エチル及び n—ヘキサンの混液(1:9)150ml を注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下で酢酸エチル及び 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 5ml として、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は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。

操作条件 1

カラム 内径 0.25mm, 長さ 10~30m 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をを用いる。

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

試験溶液注入口温度 230°C

検出器 300°C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。流速を至適条件に調整する。

操作条件 2

カラム 内径 0.25mm, 長さ 10~30m 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% フェニルーメチルシリコンを 0.25 μ m の厚さでコーティングしたものをを用いる。

カラム温度 50°Cで 1 分間保持し, その後毎分 25°Cで昇温する。125°Cに到達後, 毎分 10°Cで昇温し, 300°Cに到達後 3 分間保持する。

試験溶液注入口温度 230°C

検出器 300°C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。流速を至適条件に調整する。

b 定量試験

a 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。

c 確認試験

a 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。

(7) カルバドックス試験法

キノキサリン—2—カルボン酸を分析対象とする。

1. 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及び液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は, 第 2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものをを用いる。

なお, 「(特級)」と記載したものは, 日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(500mg) 内径 8~9mm のポリエチレン製のカラム管に、オクタデシルシリル化シリカゲル 500mg 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。

強塩基性陰イオン交換体ミニカラム(360mg) 内径 8~9mm のポリエチレン製のカラム管に、トリメチルアミノアクリルアミド共重合体シリル化シリカゲル 360mg 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。

水 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム 無水硫酸ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、*n*-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

リン酸緩衝液(pH2.5) リン酸一カリウム 1.36g を水に溶かして 800ml とする。これにリン酸を加えて pH2.5 に調整し、水を加えて 1,000ml とする。

3. 標準品

キノキサリン—2—カルボン酸 本品はキノキサリン—2—カルボン酸 99%以上を含む。

分解点 本品の分解点は 208℃である。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

検体を細切均一化した後、その 5.00g を量り採る。なお、筋肉の場合は、可能な限り脂肪層を除いた上で細切均一化を行う。

これにメタノール及び 0.3%メタリン酸溶液の混液(3:7)100ml を加え、細砕した後、ケイソウ土を 2mm 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。次いでメタノール及び 0.3%メタリン酸溶液の混液(3:7)10ml を用いてろ紙上の残留物を洗い、洗液を吸引ろ過し、ろ液をそのすり合わせ減圧濃縮器中に合わせ、45℃以下で 30ml に濃縮した後、リン酸 0.1ml を加える。

b 精製法

① オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(500mg)に、メタノール 5ml 及び水 10ml を順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに a 抽出法で得られた溶液を注入した後、リン酸緩衝液(pH2.5)20ml を注入し、流出液は捨てる。このカラムにメタノール 10ml を注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下でメタノールを除去する。この残留物に水 5ml を加えて溶かす。

② 強塩基性陰イオン交換体カラムクロマトグラフィー

強塩基性陰イオン交換体ミニカラム(360mg)に、水 5ml を注入し、流出液は捨てる。このカラムに① オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィーで得られた溶液を注入した後、水 2ml、エタノール 10ml、水 5ml を順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに 0.1mol/l 塩酸 5ml を注入し、溶出液を 50ml の試験管に採り、3mol/l 塩酸 3ml 及び酢酸エチル 15ml 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 100ml の三角フラスコ中に移す。水層に酢酸エチル 15ml 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中に合わせる。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し、40℃以下で酢酸エチルを除去する。この残留物にアセトニトリル及びリン酸緩衝液(pH2.5)の混液(1:4)1.0ml を加えて溶かし、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 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

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 5 μ m)を用いる。

カラム管 内径 4.0~6.0mm, 長さ 150mm のステンレス管を用いる。

カラム温度 40℃

検出器 吸光波長 245nm で操作する。

移動相 アセトニトリル及びリン酸緩衝液(pH2.5)の混液(1:4)を用いる。キノキサリン—2—カルボン酸が約 10 分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 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。

c 確認試験

a 定性試験と同様の操作条件で液体クロマトグラフィー・質量分析を行う。ただし、移動層はアセトニトリル及び水の混液(1:4)を用いる。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。

(8) クマホス試験法

1. 装置

アルカリ熱イオン化検出器, 炎光光度型検出器(リン用干渉フィルター, 波長 526nm)又は高感度窒素・リン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。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第 2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトニトリル アセトニトリル 300ml をすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトニトリルを除去する。この残留物を n—ヘキサン 5ml に溶かし、その 5 μ l を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上の n—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} g の γ —BHC が示すピークの高さ以下でなければならない。

アセトン アセトン 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトンを除去する。この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし、その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

塩化ナトリウム 塩化ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n—ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

カラムクロマトグラフィー用シリカゲル(粒径 63~200 μ m) カラムクロマトグラフィー用に製造したシリカゲル(粒径 63~200 μ m)を 130°Cで 12 時間以上加熱した後、デシケーター中で放冷する。

ケイソウ土 化学分析用ケイソウ土を用いる。

酢酸エチル 酢酸エチル 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、酢酸エチルを除去する。この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし、その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

n—ヘキサン n—ヘキサン 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて 5mlに濃縮し、この 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

水 蒸留水を用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n—ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム 無水硫酸ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n—ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

3. 標準品

クマホス 本品はクマホス 98%以上を含む。

融点 本品の融点は 95°Cである。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 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 10.0g を量り採り、水 20ml を加えて、2 時間放置する。

これにアセトン 100ml を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1cm 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 50ml 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°C 以下でアセトンを除去する。

これをあらかじめ飽和塩化ナトリウム溶液 100ml を入れた 300ml の分液漏斗に移す。酢酸エチル及び n—ヘキサンの混液(1:4)100ml 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、酢酸エチル及びn—ヘキサンの層を300mlの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル及びn—ヘキサンの混液(1:4)50mlを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル及びn—ヘキサンの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し、n—ヘキサン20ml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℃以下で酢酸エチル及びn—ヘキサンを除去する。

この残留物にn—ヘキサン30mlを加え、100ml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30ml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30ml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。この残留物にアセトン及びn—ヘキサンの混液(1:1)5mlを加えて溶かす。

② 果実、野菜、茶及びホップの場合

果実及び野菜の場合は、検体約1kgを精密に量り、必要に応じ適量の水を量って加え、細切均一化した後、検体20.0gに相当する量を量り採る。

茶の場合は、検体5.00gを量り採り、水20mlを加え、2時間放置する。

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

これにアセトン100mlを加え、3分間細砕した後、ケイソウ土を1cm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50ml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に合わせ、40℃以下でアセトンを除去する。

これをあらかじめ飽和塩化ナトリウム溶液100mlを入れた300mlの分液漏斗に移す。酢酸エチル及びn—ヘキサンの混液(1:4)100ml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、酢酸エチル及びn—ヘキサンの層を300mlの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル及びn—ヘキサンの混液(1:4)50mlを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル及びn—ヘキサンの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20ml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℃以下で酢酸エチル及びn—ヘキサンを除去する。この残留物にアセトン及びn—ヘキサンの混液(1:1)5mlを加えて溶かす。

③ ①及び②に掲げる食品以外の食品の場合

①又は②の場合に準じて抽出を行う。

b 精製法

内径 15mm, 長さ 300mm 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)5g をアセトン及び n-ヘキサンの混液(1:1)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 5g を入れ, カラムの上端に少量のアセトン及び n-ヘキサンの混液(1:1)が残る程度までアセトン及び n-ヘキサンの混液(1:1)を流出させる。このカラムに a 抽出法で得られた溶液を注入した後, アセトン及び n-ヘキサンの混液(1:1)100ml を注入し, 溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り, 40°C以下でアセトン及び n-ヘキサンを除去する。この残留物にアセトンを加えて溶かし, 正確に 5ml として, これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は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。

操作条件 1

カラム 内径 0.53mm, 長さ 10~30m のケイ酸ガラス製の細管に, ガスクロマトグラフィー用メチルシリコンを 1.5 μm の厚さでコーティングしたものを用いる。

カラム温度 80°Cで 1 分間保持し, その後毎分 8°Cで昇温する。250°Cに到達後 5 分間保持する。

試験溶液注入口温度 230°C

検出器 280°C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。流速を至適条件に調整する。空気及び水素の流量を至適条件に調整する。

操作条件 2

カラム 内径 0.32mm, 長さ 10~30m のケイ酸ガラス製の細管に, ガスクロマトグラフィー用 50%トリフルオロプロピル-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を用いる。

カラム温度 70°Cで 1 分間保持し, その後毎分 25°Cで昇温し, 125°Cに到達後は毎分 10°Cで昇温し, 235°Cに到達後 12 分間保持する。

試験溶液注入口温度 230°C

検出器 280°C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。流速を至適条件に調整する。空気及び水素の流量を至適条件に調整する。

b 定量試験

a 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。

c 確認試験

a 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。

(9) クロラムフェニコール試験法

1. 装置

高速液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

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(60mg) 内径 12~13mm 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 60mg 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。

水 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

3. 標準品

クロラムフェニコール 本品はクロラムフェニコール 99%以上を含む。

分解点 本品の分解点は 208℃である。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

検体を細切均一化した後、その 5.00g を量り採る。なお筋肉の場合は、可能な限り脂肪層を除いた上で細切均一化を行う。

これにメタノール及び 1%メタリン酸溶液の混液(3:2)100ml を加え、細砕した後、ケイソウ土を 2mm 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。次いでメタノール及び 1%メタリン酸溶液の混液(3:2)10ml を用いてろ紙上の残留物を洗い、洗液を吸引ろ過し、ろ液をそのすり合わせ減圧濃縮器中に合わせ、45℃以下で 30ml に濃縮する。

b 精製法

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(60mg)に、メタノール 5ml 及び水 5ml を順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに a 抽出法で得られた溶液を注入した後、水 10ml を注入し、流出液は捨てる。このカラムにメタノール 10ml を注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下でメタノールを除去する。この残留物にアセトニトリル及び水の混液(3:7)1.0ml を加えて溶かし、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 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

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 2~5 μm)を用いる。

カラム管 内径 2.0~6.0mm, 長さ 100~250mm のステンレス管を用いる。

カラム温度 40℃

移動相 アセトニトリル及び 10mmol/l ギ酸アンモニウムの混液(3:7)を用いる。クロラムフェニコールが約 5 分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 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。

(10) クロルプロマジン試験法

1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は, 第 2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

強酸性陽イオン交換体ミニカラム(500mg) 内径 8~9mm のポリエチレン製のカラム管に, ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲル 500mg 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。

水 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

メタノール 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

3. 標準品

塩酸クロルプロマジン 本品は塩酸クロルプロマジン 98%以上を含む。

融点 本品の融点は 194~196℃である。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

検体を細切均一化した後, その 5.00g を量り採り, 酢酸エチル 25ml 及び 4mol/l 炭酸カリウム溶液 1ml を加えて細砕した後, 毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し, 酢酸エチル層をすり合わせ減圧濃縮器中に採る。残留物に酢酸エチル 25ml を加え, 上記と同様に細砕, 遠心分離し, 酢酸エチル層を減圧濃縮器中に合わせて, 40℃以下で酢酸エチルを除去する。この残留物にアセトニトリル 30ml 及びアセトニトリル飽和 n-ヘキサン 30ml を加えて, 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 100ml の分液漏斗に移す。これにアセトニトリル飽和 n-ヘキサン 30ml を加え, 上記と同様に操作して, アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に採り, 40℃以下でアセトニトリルを除去する。この残留物にメタノール及び 1.2%メタリン酸溶液の混液(2:3)10ml を加えて溶かし, 綿栓ろ過する。

b 精製法

強酸性陽イオン交換体ミニカラム(500mg)に, メタノール 3ml 及び水 3ml を順次注入し, 流出液は捨てる。このカラムに a 抽出法で得られた溶液を注入した後, 水 5ml を注入し,

流出液は捨てる。このカラムにメタノール及び 0.1mol/lリン酸二カリウム溶液の混液(9:1)15mlを注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下で水及びメタノールを除去する。この残留物にメタノール 1.0mlを加えて溶かし、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 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

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 2~5 μm)を用いる。

カラム管 内径 2.0~6.0mm, 長さ 100~250mm のステンレス管を用いる。

カラム温度 40℃

移動相 アセトニトリル, ギ酸及び水の混液(500:1:500)を用いる。クロルプロマジンが約 15分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 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。

(11) ジエチルステルベストール試験法

1. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第 2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

グルクロニダーゼ溶液 *Helix pomatia* より抽出、精製したβ-D-グルクロニダーゼ 100,000 ユニット/ml を含む。

ジクロロメタン ジクロロメタン(特級)

弱塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラム(500mg) 内径 8~9mm のポリエチレン製のカラム管に、カラムクロマトグラフィー用に製造したジエチルアミノプロピル化弱塩基性陰イオン交換樹脂 500mg 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。

水 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム 無水硫酸ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、ジクロロメタン等で洗浄したものを用いる。

3. 標準品

ジエチルステルベストール 本品はジエチルステルベストール 99%以上を含む。

分解点 本品の分解点は 208℃である。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

検体を細切均一化した後、その 5.00g を量り採り、0.04mol/l 酢酸ナトリウム溶液 11ml を加えて細碎し、酢酸を加えて pH4.25~4.75 に調整する。これにグルクロニダーゼ溶液 100 μ l を加え、37°C で 14 時間放置する。これにアセトニトリル 16ml を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、上澄液をすり合わせ減圧濃縮器中に採る。残留物にアセトニトリル 16ml を加え、上記と同様の操作を 2 回繰り返す。上澄液をすり合わせ減圧濃縮器中に合わせ、50°C 以下で約 3ml に濃縮する。これにジクロロメタン 50ml 及び 5% 塩化ナトリウム溶液 200ml を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、ジクロロメタン層を採る。無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過する。水層にジクロロメタン 50ml を加え、上記と同様の操作を 2 回繰り返す。ジクロロメタン層を合わせ、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し、40°C 以下でジクロロメタンを除去する。この残留物に n-ヘキサン及びベンゼンの混液(3:1)4ml を加えて溶かす。

b 精製法

弱塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラム(500mg)に、n-ヘキサン及びベンゼンの混液(3:1)10ml を注入し、流出液は捨てる。このカラムに a 抽出法で得られた溶液を注入した後、n-ヘキサン及びベンゼンの混液(3:1)2ml、ジクロロメタン 4ml を順次注入し、流出液は捨てる。このカラムにジクロロメタン及びメタノールの混液(9:1)8ml を注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40°C 以下でジクロロメタン及びメタノールを除去する。この残留物にアセトニトリル及び水の混液(1:1)0.5ml を加えて溶解し、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 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

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 2~5 μ m)を用いる。

カラム管 内径 2.0~6.0mm、長さ 100~250mm のステンレス管を用いる。

カラム温度 40°C

移動相 アセトニトリル及び 0.002mol/l 酢酸アンモニウムの混液(1:1)を用いる。ジエチルステルベストロールが約 7 分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 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。

(12) 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

1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第 2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したものをを用いる。

メタノール 液体クロマトグラフ用に製造したものをを用いる。

水 液体クロマトグラフ用に製造したものをを用いる。

3. 標準品

ジメトリダゾール 本品はジメトリダゾール 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 138~139℃である。

メトロニダゾール 本品はメトロニダゾール 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 158~160℃である。

ロニダゾール 本品はロニダゾール 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 167~169℃である。

4. 試験溶液の調製

検体を細切均一化した後、その 5.00g を量り採り、アセトニトリル 20ml を加えて細砕した後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層を 100ml の分液漏斗中に移す。これに n-ヘキサン 20ml を加えて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し、n-プロパノール 5ml を加えて、40℃以下でアセトニトリル及び n-プロパノールを除去する。この残留物にメタノール 1.0ml を加えて溶かし、孔径 0.2 μm のメンブランフィルターを用いてろ過して、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 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

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 2~5 μm)を用いる。

カラム管 内径 2.0~6.0mm, 長さ 100~250mm のステンレス管を用いる。

カラム温度 40℃

移動相 アセトニトリル及び水の混液(1:9)を用いる。ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾールが 4~10 分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 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。

(13) ダミノジッド試験法

1. 装置

アルカリ熱イオン化検出器又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ、ガスクロマトグラフ・質量分析計並びに水蒸気蒸留装置を用いる。水蒸気蒸留装置はガラス製で、その概略は、次の図による。

A: 1,000ml の丸底フラスコ(水蒸気発生用)

B: 1,000ml の丸底フラスコ(蒸留用)

C: 蒸留トラップ

D: 冷却管

E: 100ml の三角フラスコ

[画像 1 \(21KB\)](#)

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第 2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトン アセトン 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトンを除去する。この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし、その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

塩基性アルミナミニカラム(1,710mg) 内径 8~9mm のポリエチレン製のカラム管に、塩基性アルミナ 1,710mg 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。

消泡用シリコン シリコンを消泡用に製造したものを用いる。

o—ニトロベンズアルデヒド o—ニトロベンズアルデヒド(特級)

1% o—ニトロベンズアルデヒド・メタノール溶液 o—ニトロベンズアルデヒド 100mg にメタノール 10ml を加えて溶かす。用時調製する。

フェノールフタレイン試液 フェノールフタレイン 1g をエタノール 100ml に溶かす。

n—ヘキサン n—ヘキサン 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて 5mlに濃縮し、この 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

水 蒸留水を用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n—ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

メタノール メタノール 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、メタノールを除去する。この残留物をn—ヘキサン 5mlに溶かし、その 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

リン酸緩衝液(pH5) リン酸一カリウム 13.15g 及びリン酸二カリウム 0.59g に水を加えて溶かし、100ml とする。

3. 標準品

ジメチルヒドラジン 本品は 1, 1—ジメチルヒドラジン 97%以上を含む。

沸点 本品の沸点は 62~64°Cである。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 穀類, 豆類, 種実類, 果実, 野菜, 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 $420\mu\text{m}$ の標準網ふるいを通るように粉碎した後, その 5.0g を量り採る。

果実及び野菜の場合は, 検体約 1kg 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 10.0g に相当する量を量り採る。

抹茶の場合は, 検体 5.0g を量り採る。

ホップの場合は, 検体を粉碎した後, 5.0g を量り採る。

これに水 80ml を加え, 振とう機を用いて 30 分間激しく振り混ぜた後, ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り, 水 40ml を加え, 5 分間振とうした後, 上記と同様に操作してろ液を $1,000\text{ml}$ の丸底フラスコ(蒸留用)中に合わせる。

② 抹茶以外の茶の場合

検体 6.0g を 100°C の水 360ml に浸し, 室温で 5 分間放置した後, ろ過し, 冷後ろ液 120ml を $1,000\text{ml}$ の丸底フラスコ(蒸留用)に移す。

③ ①及び②に掲げる食品以外の食品の場合

①の場合に準じて抽出を行う。

b 蒸留

上記の丸底フラスコに水酸化ナトリウム 60g (野菜及び果実の場合は, 65g)を水冷しながら, 少量ずつ加えて溶かす。これに消泡用シリコン $1\sim 2$ 滴を加えた後, 直ちに蒸留装置に取り付ける。別に, リン酸緩衝液($\text{pH}5$) 5ml 及びフェノールフタレイン試液 1 滴を入れた 100ml の三角フラスコを水蒸気蒸留装置に取り付け, $1,000\text{ml}$ の丸底フラスコ(水蒸気発生用)を加熱しておく。留液が 45ml になるまで水蒸気蒸留し, 留液が着色しないことを確認する。蒸留が約 15 分間で終了するように加熱強度を調節する。

c 誘導体化

上記の留液に 1% o -ニトロベンズアルデヒド・メタノール溶液 1ml を加えて振り混ぜた後, 30°C で 2 時間放置する。これに n -ヘキサン 50ml を加えて 5 分間振とう後, 静置し, n -ヘキサン層を採り, 液層分離ろ紙を用いて 200ml のナス型フラスコ中にろ過する。水層に n -ヘキサン 50ml を加え, 上記と同様に操作して, n -ヘキサン層をナス型フラスコ中に合わせる。 n -ヘキサン 10ml を用いてろ紙上の残留物を洗い, 洗液をナス型フラスコ中に合わせ, 40°C 以下で n -ヘキサンを除去する。この残留物にアセトン及び n -ヘキサンの混液($1:19$) 5ml を加えて溶かす。

d 精製法

塩基性アルミナミニカラム($1,710\text{mg}$)にアセトン及び n -ヘキサンの混液($1:19$) 10ml を注入し, 流出液は捨てる。このカラムに c 誘導体化で得られた溶液を注入した後, アセトン及び n -ヘキサンの混液($1:19$) 10ml を注入し, 溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り,

40℃以下でアセトン及びn-ヘキサンを除去する。この残留物にアセトンを加えて溶かし、正確に5mlとし、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 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 c 誘導体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 0.25mm, 長さ10~30m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0.25µmの厚さでコーティングしたものを用いる。

カラム温度 60℃で2分間保持し、その後毎分10℃で昇温し、280℃に到達後5分間保持する。

試験溶液注入口温度 280℃

検出器 280℃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。ジメチルヒドラジンの誘導体が約13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。

b 定量試験

a 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い、ジメチルヒドラジンの含量を求める。さらに、次式により、ダミノジッドの含量を求める。

ダミノジッドの含量(ppm) = 2.67 × ジメチルヒドラジンの含量(ppm)

c 確認試験

a 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 c 誘導体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。

d 検量線

ジメチルヒドラジン水溶液 1ml にリン酸緩衝液(pH5)5ml 及び水 40ml を加えたものについて4. 試験溶液の調製の c 誘導体化と同様に操作する。

(14) ニトロフラン類試験法

3-アミノ-2-オキサゾリドン, 1-アミノヒダントイン, 3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン及びセミカルバジドを分析対象とする。

1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

多孔性ケイソウ土カラム(20ml 保持用) 内径 20~30mm のポリエチレン製のカラム管に、20ml を保持することができる量のカラムクロマトグラフィー用に製造した顆粒状多孔性ケイソウ土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。

o—ニトロベンズアルデヒド o—ニトロベンズアルデヒド(特級)

水 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

3. 標準品

3—アミノ—2—オキサゾリドン 本品は 3—アミノ—2—オキサゾリドン 99%以上を含む。

分解点 本品の分解点は 65~67°Cである。

1—アミノヒダントイン塩酸塩 本品は 1—アミノヒダントイン塩酸塩 90%以上を含む。

分解点 本品の分解点は 201~205°Cである。

3—アミノ—5—モルフォリノメチル—2—オキサゾリドン 本品は 3—アミノ—5—モルフォリノメチル—2—オキサゾリドン 99%以上を含む。

分解点 本品の分解点は 115~120°Cである。

塩酸セミカルバジド 本品は塩酸セミカルバジド 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 175~177°Cである。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法及び誘導体化

検体を細切均一化した後、その 5.00g を量り採り、0.1mol/l 塩酸 10ml を加えて細砕した後、0.05mol/l o—ニトロベンズアルデヒド・ジメチルスルホキシド溶液 0.4ml を加えて 37°C で 16 時間放置する。これに 0.1mol/l リン酸水素ニカリウム溶液 5ml を加え、1mol/l 水酸化ナトリウム溶液約 0.8ml を加えて pH7~8 に調整する。これを毎分 2,500 回転で 5 分間遠心分離し、上澄液を採る。

b 精製法

多孔性ケイソウ土カラム(20ml 保持用)に、a 抽出法及び誘導体化で得られた上澄液を注入する。このカラムを 5 分間放置した後、酢酸エチル 100ml を注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40°C 以下で酢酸エチルを除去する。この残留物にアセトニトリル及び水の混液(1:1)1.0ml を加えて溶かし、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 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

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 2~5 μm)を用いる。

カラム管 内径 2.0~6.0mm, 長さ 100~250mm のステンレス管を用いる。

カラム温度 40°C

移動相 アセトニトリル及び0.1%酢酸溶液の混液(1:4)から(4:1)までの濃度勾配を15分間で行う。3-アミノ-2-オキサゾリドンが約12分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 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。

(15) プロファム試験法

1. 装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部 C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトニトリル アセトニトリル 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトニトリルを除去する。この残留物をn-ヘキサン 5mlに溶かし、その5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn-ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ -BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

アセトン アセトン 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトンを除去する。この残留物をn-ヘキサン 5mlに溶かし、その5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn-ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ -BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

塩化ナトリウム 塩化ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものをを用いる。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(1,000mg) 内径 12~13mm のポリエチレン製のカラム管に、オクタデシルシリル化シリカゲル 1,000mg 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。

カラムクロマトグラフィー用シリカゲル(粒径 63~200 μ m) カラムクロマトグラフィー用に製造したシリカゲル(粒径 63~200 μ m)を130°Cで12時間以上加熱した後、デシケーター中で放冷する。

グラファイトカーボン及びアミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム(500mg/500mg) 内径 12~13mm のポリエチレン製のカラム管に、グラファイトカーボン 500mg 及びアミノプロピルシリル化シリカゲル 500mg 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。

ケイソウ土 化学分析用ケイソウ土を用いる。

トルエン トルエン 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、トルエンを除去する。この残留物をn-ヘキサン 5mlに溶かし、その5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ

に注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

n—ヘキサン n—ヘキサン 300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて 5mlに濃縮し、この 5 μ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn—ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} gの γ —BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

水 蒸留水を用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n—ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム 無水硫酸ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n—ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

0.5mol/lリン酸緩衝液(pH7.0) リン酸二ナトリウム(十二水和物)136.85g 及びリン酸一ナトリウム(二水和物)17.92gを量り採り、水に溶解して 1,000mlとする。

3. 標準品

プロファム 本品はプロファム 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 87°Cである。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 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 10.0gを量り採り、水 20mlを加え、15分間放置する。

これにアセトニトリル 50mlを加え、3分間細砕した後、ケイソウ土を 1cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトニトリル 20mlを加え、3分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて 100mlとする。

上記の溶液 20mlを 100mlの分液漏斗に採り、塩化ナトリウム 10g及び 0.5mol/lリン酸緩衝液(pH7.0)20mlを加え、振とう機を用いて 10分間激しく振り混ぜた後、静置し、水層を捨て、アセトニトリル層を採る。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(1,000mg)にアセトニトリル 10mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記のアセトニトリル層を注入する。溶出液を 50mlの三角フラスコに採った後、アセトニトリル 2mlを上記のカラムに注入し、溶出液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。アセトニトリル 10ml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°C以下でアセトニトリルを除去する。

この残留物をトルエン及びアセトニトリルの混液(1:3)2mlに溶解する。

② 果実、野菜、茶及びホップの場合

果実及び野菜の場合は、検体約 1kg 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 20.0g に相当する量を量り採る。

茶及びホップの場合は、検体を粉碎した後、その 5.00g を量り取り、水 20ml を加えて、15 分間放置する。

これにアセトニトリル 50ml を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1cm の厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトニトリル 20ml を加え、3 分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて 100ml とする。

上記の溶液 20ml を 100ml の分液漏斗に採り、塩化ナトリウム 10g 及び 0.5mol/l リン酸緩衝液(pH7.0)20ml を加え、振とう機を用いて 10 分間激しく振り混ぜた後、静置し、水層を捨てる。アセトニトリル層を 50ml の三角フラスコに採り、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。アセトニトリル 10ml 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℃以下でアセトニトリルを除去する。

この残留物をトルエン及びアセトニトリルの混液(1:3)2ml に溶解する。

③ ①及び②に掲げる食品以外の食品の場合

①又は②の場合に準じて抽出を行う。

b 精製法

グラファイトカーボン及びアミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム(500mg/500mg)にトルエン及びアセトニトリルの混液(1:3)10ml を注入し、流出液は捨てる。このカラムに a 抽出法で得られた溶液を注入した後、トルエン及びアセトニトリルの混液(1:3)20ml を注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下でトルエン及びアセトニトリルを除去する。この残留物にアセトン及び n-ヘキサンの混液(1:1)を加えて溶かし、正確に 2ml(穀類、豆類、種実類、茶及びホップの場合は 1ml)として、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 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 0.25mm, 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をを用いる。

カラム温度 50℃で 1 分間保持し、その後毎分 25℃で昇温し、125℃に達した後毎分 10℃で昇温し、300℃に到達後 6.5 分間保持する。

試験溶液注入口温度 250℃

検出器 280℃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。流速を至適条件に調整する。

注入方式 スプリットレス

測定質量数(m/z) 93, 137 及び 179

b 定量試験

a 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。