

ジクロロボス及びトリクロロホン試験法

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 |
| ジクロロボス | ジクロロボス |
| トリクロロホン | トリクロロホン |

2. 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526 nm）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。

3. 試薬，試液

総則の3に示すものを用いる。

4. 標準品

ジクロロボス 本品はジクロロボス97%以上を含む。

沸点 本品の沸点は128～129℃（減圧・2.5 kPa）である。

トリクロロホン 本品はトリクロロホン99%以上を含む。

融点 本品の融点は83～84℃である。

5. 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 µm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。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℃以下で酢酸エチルを除去する。

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30 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。この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサンの混液（1：1）5 mL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1 kg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20.0 gに相当する量を量り採る。

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。

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。

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。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。この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサンの混液（1：1）5 mLを加えて溶かす。

(3) 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。

これに飽和酢酸鉛溶液2 mLを加え、室温で1時間放置した後、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を用いてろ紙上の残留物を洗い、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100 g及びエーテル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、エーテル層を300 mLの三角フラスコに移す。水層にエーテル100 mLを加え、上記と同様に操作して、エーテ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。次いでエーテル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°C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。この残留物にアセトン及びヘキサンの混液（1：1）5 mLを加えて溶かす。

b 精製法

(1) ほうれんそう及び茶以外の作物の場合

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）5 gをアセトン及び*n*-ヘキサンの混液（1：1）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）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°C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。この残留物にアセトンを加えて溶かし、正確に2 mL（果実及び野菜の場合は、4 mL）とする。

(2) ほうれんそう及び茶の場合

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）5 gをアセトン及び*n*-ヘキサンの混液（1：1）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）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°C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。この残留物にアセトンを加えて溶かし、正確に4 mL（抹茶の場合は、8 mL）とする。

活性炭ミニカラム（500 mg）にアセトン10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記の溶液1 mLを注入した後、アセトン10 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40°C以下で約1 mLに濃縮する。

c 誘導体化

10 mLのねじ共栓付き試験管にb 精製法で得られた溶液1 mL（ほうれんそう及び茶の場合は全量）を採り、室温で窒素気流下でアセトンを除去する。これに*N*-メチルピストリフルオロアセトアミド100 µL並びにアセトン及びピリジンの混液（1,000：1）900 µLを加える。密栓して時々振り混ぜながら60°Cで2時間加熱した後、室温になるまで放置したものを試験溶液とする。

6. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品のアセトン溶液について5. 試験溶液の調製のc 誘導体化と同様に操作したものと一致しなければならない。

操作条件

カラム 内径0.53 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1.0 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20℃で昇温し, 240℃に到達後10分間保持する。

試験溶液注入口温度 240℃

検出器 245℃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。ジクロロボスが約3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。試験結果は標準品のアセトン溶液について5. 試験溶液の調製のc 誘導体化と同様に操作し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。

7. 定量限界

ジクロロボス 0.01 mg/kg

トリクロロホン 0.01 mg/kg

8. 留意事項

ジクロロボスには誘導体化操作による変化がないこと。ガスクロマトグラフ注入口やカラムが汚れているとトリクロロホン誘導体が分解しやすくなること。トリクロロホンの誘導体化の加熱時間が3時間を超えると収率が悪くなること。検出器にアルカリ熱イオン化検出器, 高感度窒素・リン検出器を使用する場合, カラムは, 5%フェニルメチルポリシロキサンをコーティングしたもの等が望ましいこと。

9. 参考文献

なし

10. 類型

A