

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3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

(1) 穀類、豆類及び種実類の場合

試料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。ろ紙上の残留物にアセトニトリル20 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、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、*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。抽出液を合わせ、40℃以下で約20 mLに濃縮する。

これに塩化ナトリウム10 g及び0.01 mol/L塩酸15 mL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（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℃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1 mLとする。

(2) 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20.0 gを量り採る。茶及びホップの場合は、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。ろ紙上の残留物にアセトニトリル20 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、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°C (2分) -20°C/分-180°C (0分) -5°C/分-200°C

注入口温度：230°C

検出器温度：230°C

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 µm

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 μL

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

- (1) 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。
- (2) 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。
- (3) 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きるほど窒素を吹きつけたり、乾固させたりしないようにすること。
- (4) 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。
- (5) 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。

11. 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)

12. 類型

C