

農薬等の環境残留実態調査分析法

底質編

1. 有機塩素系化合物分析法

1.1. 分析法の概要

試料からアセトンで抽出後，ヘキサンに抽出，グラファイトカーボン + フロリジル + NH₂ 連結ミニカラムで精製，GC/MS(SCAN，ケルセンのみ SIM)で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
ヘキサクロロベンゼン ヘキサクロロシクロヘキサン (, , , 体) クロルデン(cis, trans) オキシクロルデン trans-ノナクロル アルドリン，ヘプタクロル ヘプタクロルエポキシド	アセトン抽出 ヘキサン抽出 グ ラファイトカーボン + フロリジル + NH ₂ (3 連結) C C GC/MS(SCAN， ケルセンのみ SIM)	10µg/kg
DDT, DDD, DDE (各 p,p' 体, o,p' 体) メトキシクロル		5µg/kg
ケルセン，アルドリン エンドリン，ディルドリン エンドスルファン(, , SO ₂ 体)		20µg/kg

1.2. 対象化合物の概要

水質編参照

1.3. 分析法フローチャート

秤 取

試料 20g(乾土相当量)

アセトン抽出

- | アセトン 100ml を加え 30 分間振とう
- | ろ過(ろ紙 + GFP)
- | 残留物：アセトン 50ml で洗浄，ろ過
- | ろ液を合せ，半量(乾土 10g 相当)を採取

ヘキサン抽出

- | 水 500ml，塩化ナトリウム 25g
- | ヘキサン 50ml × 3
- | 無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過
- | 減圧濃縮，窒素乾固

グラファイトカーボン + フロリジル + NH₂ 連結 C C

- | 上から順にグラファイトカーボン^{a)} + フロリジル^{b)} + NH₂^{c)}の各ミニカラムを連結
- | 予備洗浄：ヘキサン - アセトン(85:15) 10ml
- | 溶出：ヘキサン - アセトン(85:15) 5ml × 3(洗い込み) + 15ml
- | 減圧濃縮，窒素乾固

GC/MS 定量

内標準物質(アントラセン d₁₀, 0.5µg/ml)を含む適量の

アセトン(2~10ml)に溶解, 1~5 μ l 注入

- a) 例: SEP Cartridge CARBOGRAPH (500mg/6ml), ジーエルサイエンス
- b) 例: Sep-Pak Plus フロリジル (910mg), Waters
- c) 例: Sep-Pak Plus NH₂ (360mg), Waters

1.4. 検量線

対象化合物(cis-, trans-クロルデン, オキシクロルデン及びケルセンを除く)の標準品をヘキサンに溶解し, 500 μ g/ml 溶液を調製する。cis-, trans-クロルデン及びオキシクロルデンはアンプル封入標準溶液をアセトンで同様に希釈する。これらを表 1.1 に記載した最小検出量の比で混合し, さらにアセトンで希釈し, 内標準物質(アントラセン d₁₀, 0.5 μ g/ml)を含む 0.025~2 μ g/ml の混合標準溶液を数点調製する。この 5 μ l を GC/MS に注入し, 内標準法による検量線を作成する。

ケルセンは標準品をヘキサンに溶解し, 500 μ g/ml を調製する。これをアセトンで希釈し, 内標準物質(アントラセン d₁₀, 0.5 μ g/ml)を含む 0.02~0.4 μ g/ml の標準溶液を数点調製する。この 1 μ l を GC/MS に注入し, 内標準法による検量線を作成する。

1.5. 検出限界

GC/MS で測定した場合の有機塩素系化合物の最小検出量と検出限界を表 1.1 に示した。

表 1.1 有機塩素系化合物の最小検出量と検出限界

化合物	最終液量	注入量	最小検出量	検出限界
ヘキサクロロシクロヘキサン(, , , 体)	2ml	5 μ l	0.25ng	10 μ g/kg
DDT(p,p', o,p'体)	2ml	5 μ l	0.125ng	5 μ g/kg
DDD(p,p', o,p'体)	2ml	5 μ l	0.125ng	5 μ g/kg
DDE(p,p', o,p'体)	2ml	5 μ l	0.125ng	5 μ g/kg
アルドリノ	2ml	5 μ l	0.25ng	10 μ g/kg
ディルドリン	2ml	5 μ l	0.5ng	20 μ g/kg
エンドリン	2ml	5 μ l	0.5ng	20 μ g/kg
ヘプタクロル	2ml	5 μ l	0.25ng	10 μ g/kg
ヘプタクロルエポキシサイド	2ml	5 μ l	0.25ng	10 μ g/kg
ケルセン	10ml	1 μ l	0.02ng	20 μ g/kg
メトキシクロル	2ml	5 μ l	0.125ng	5 μ g/kg
ヘキサクロロベンゼン	2ml	5 μ l	0.25ng	10 μ g/kg
クロルデン(cis, trans 体)	2ml	5 μ l	0.25ng	10 μ g/kg
trans-ノナクロル	2ml	5 μ l	0.25ng	10 μ g/kg
オキシクロルデン	2ml	5 μ l	0.25ng	10 μ g/kg
エンドスルファン(, , SO ₂ 体)	2ml	5 μ l	0.5ng	20 μ g/kg

1.6. ガスクロマトグラフ操作条件例

[条件 1：ケルセン以外の化合物の測定条件]

機種(検出器)：GC/MS(SCAN モード)

プレカラム：不活性化フューズドシリカキャピラリカラム， 0.53mm×0.5m

分離カラム：5%フェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム

(例：HP-5ms， 0.25mm×30m，膜厚 0.25 μ m)

温度：カラム 70 (2min) 10 /min 280 (2min)

注入口 61 (1.5 min) 5 /sec 250 (23 min)

インターフェイス 280 ，イオン源 約 175

ガス圧力：キャリアー(He) 溶媒排出時；14.6psi

溶媒排出後；11psi 0.45psi/min 20.8psi(5min)

注入方式：溶媒排出型昇温注入法，Optic 2(ATAS Ltd.)，溶媒排出時間 1.5min

イオン化電圧：70eV

イオン化法：EI

走査質量範囲：m/Z=60～460

[条件 2：ケルセン測定条件]

機種(検出器)：GC/MS(SIM モード)

分離カラム：5%フェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム

(例：HP-5ms， 0.25mm×30m，膜厚 0.25 μ m)

温度：カラム 100 (1min) 10 /min 280

注入口 250 ，インターフェイス 280 ，イオン源 約 175

ガス流量：キャリアー(He) 1ml/min(定流量)

注入方式：スプリトレス注入法(パージ開始時間 注入後 1min)

イオン化電圧：70eV

イオン化法：EI

測定質量：m/Z=139，250，111

表 1.2 有機塩素系化合物の測定イオン

化合物	定量	参照 1	参照 2
ヘキサクロロシクロヘキサン(, , , 体)	181	219	183
DDT(p,p' , o,p'体)	235	237	165
DDD(p,p' , o,p'体)	235	237	165
DDE(p,p' , o,p'体)	246	318	248
アルドリン	263	265	66
ディルドリン	79	263	277
エンドリン	263	81	265
ヘプタクロル	272	274	100
ヘプタクロルエポキサイド	353	355	81
ケルセン	139	250	111
メトキシクロル	227	228	
ヘキサクロロベンゼン	284	286	249
クロルデン(cis , trans 体)	375	373	237
trans-ノナクロル	409	407	411
オキシクロルデン	115	185	387
エンドスルファン(, 体)	195	241	339
エンドスルファン(SO ₂ 体)	272	229	387
アントラセン	188		

1.7. 参考文献

第 26 回日本環境化学会講演会予稿集 , p.131 , 1998 , 日本環境化学会編集

2. トリアジン系，有機リン系及びその他の化合物分析法

2.1. 分析法の概要

試料からアセトンで抽出後，多孔性ケイソウ土カラム及びフロリジルミニカラムで精製，GC/MS(SIM)で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
アトラジン，アラクロール CAT，NAC，マラチオン トリフルラリン	アセトン抽出 多孔性ケイソウ土 C C フロリジル C C GC/MS(SIM)	10µg/kg
ピンクロゾリン エチルパラチオン，ニトロフェン		20µg/kg

2.2. 対象化合物の概要

水質編参照

2.3. 分析法フローチャート

秤取

試料 20g(乾土相当量)

アセトン抽出

- | アセトン 100ml を加え 30 分間振とう
- | ろ過(ろ紙 + ガラス繊維ろ紙)
- | 残留物：アセトン 50ml で洗浄，ろ過
- | ろ液を合せ、半量(乾土 10g 相当)を減圧濃縮，水を加えて 17ml に調整

多孔性ケイソウ土 C C

- | 保持容量 20ml の多孔性ケイソウ土カラム(例：ケムエルト CE1020)
- | 濃縮液にアセトン 1ml，塩化ナトリウム 4g を加えカラムに負荷，5 分放置
- | 溶出：ヘキサン 80ml
- | 溶出液に 1%ジエチレングリコール/アセトン溶液 1ml 添加
- | 減圧濃縮，窒素乾固

フロリジル C C

- | フロリジルミニカラム(例：Sep-Pak Plus フロリジル(910mg))
- | + リザーバー(無水硫酸ナトリウム 2g 充てん)
- | 予備洗浄：ヘキサン 5ml
- | 洗い込み：ヘキサン 5ml × 2
- | 溶出：ヘキサン - アセトン(85:15) 10ml
- | 溶出液に 1%ジエチレングリコール/アセトン溶液 1ml 添加
- | 減圧濃縮，窒素乾固

GC/MS 定量

アセトン 15ml 定容，5µl 注入

2.4. 検量線

各分析対象化合物の標準品をアセトンに溶解し、500 μ g/ml 溶液を調製する。これらを表 2.2 に記載した最小検出量の比で混合し、さらにアセトンで希釈して 0.005 ~ 0.1 μ g/ml (エチルパラチオン、ニトロフェン及びピンクロゾリンについては 0.01 ~ 0.2 μ g/ml) の混合標準溶液を数点調製し、この 5 μ l を GC/MS に注入し、検量線を作成する。

2.5. 測定機器操作条件例

機種(検出器) : GC/MS(SIM モード)

プレカラム : 不活性化フューズドシリカキャピラリカラム, 0.53mm \times 0.5m

分離カラム : 5%フェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム
(例 : HP-5ms, 0.25mm \times 30m, 膜厚 0.25 μ m)

温度 : カラム 70 (2min) 10 /min 280 (2min)

注入口 61 (1.5 min) 5 /sec 250 (23 min)

インターフェイス 280 , イオン源 約 175

ガス圧力 : キャリヤー(He) 溶媒排出時 ; 14.6psi

溶媒排出後 ; 11psi 0.45psi/min 20.8psi(5min)

注入方式 : 溶媒排出型昇温注入法, Optic 2(ATAS Ltd.), 溶媒排出時間 1.5min

イオン化電圧 : 70eV

イオン化法 : EI

設定質量数 : 表 2.1 に記載

表 2.1 分析対象化合物の分子量, フラグメント, 設定質量数及び保持時間

化合物	分子量	フラグメントイオン		保持時間 (min)
		定量	参照	
トリフルラリン	335	306	264	14.17
C A T	202	201	186	14.88
アトラジン	216	200	215	14.99
ピンクロゾリン	286	285	212	16.52
N A C	201	144	115	16.63
アラクロール	270	188	160	16.68
マラチオン	330	173	125	17.28
エチルパラチオン	291	291	109	17.52
ニトロフェン	284	283	202	19.72

2.6. 検出限界

測定対象化合物の最小検出量及び検出限界を表 2.2 に示した。

表 2.2 測定対象化合物の最小検出量及び検出限界

化合物	最小検出量	検出限界
アラクロール, アトラジン, N A C , マラチオン, C A T, トリフルラリン	0.025ng	10 μ g/kg
エチルパラチオン, ニトロフェン, ピンクロゾリン	0.05ng	20 μ g/kg

2.7 検討事項

2.7.1. 多孔性ケイソウ土カラムの検討

標準品 2 μ g を水 17ml で多孔性ケイソウ土カラムに保持させて 5 分間放置した場合、以下の処理を行った際の溶出パターンを表 2.3 に示した。保持直前の溶液にアセトン 1ml 及び塩化ナトリウム 4g を溶解し、ヘキサン 80ml で溶出した場合の回収率が最も良好であった。

表 2.3 多孔性ケイソウ土カラム溶出試験結果

	ヘキサン 80ml で溶出	保持前の水溶液に NaCl 4g を溶解，ヘキサン 80ml で溶出	保持前の水溶液にアセトン 1ml 及び NaCl 4g を溶解，ヘキサン 80ml で溶出
N A C	93%	96%	100%
トリフルラリン	20%	63%	87%
C A T	100%	57%	100%
アトラジン	100%	100%	100%
ピンクロゾリン	34%	100%	96%
アラクロール	98%	100%	98%
マラチオン	100%	100%	99%
エチルパラチオン	100%	100%	100%
ニトロフェン	90%	100%	100%

2.7.2. フロリジルミニカラムでの溶出状況

各対象物質のフロリジルミニカラムからの溶出状況を表 2.4 に示した。

表 2.4 フロリジルミニカラム溶出試験結果

	ヘキサン 5ml	ヘキサン-アセトン(97:3) 5ml	ヘキサン-アセトン(85:15) 10ml
N A C	0%	0%	90%
トリフルラリン	0%	50%	100%
C A T	0%	0%	100%
アトラジン	0%	0%	99%
ピンクロゾリン	0%	0%	100%
アラクロール	0%	0%	100%
マラチオン	0%	0%	100%
エチルパラチオン	0%	0%	100%
ニトロフェン	0%	0%	99%

各標準品 2 μ g 供試，Sep-Pak Plus フロリジル使用

2.8. 参考文献

第 26 回日本環境化学会講演会予稿集，p.62～，1998，日本環境化学会編集

3. 合成ピレスロイド系化合物分析法

3.1. 分析法の概要

試料からアセトンで抽出後、C₁₈ミニカラム及びシリカゲルミニカラムで精製(一部試料についてはフロリジルミニカラムによる精製を追加)、GC/ECDで測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
ペルメトリン シベルメトリン フェンバレレート	アセトン抽出 C ₁₈ C C シリカゲル C C (フロリジル C C) GC/ECD	10µg/kg

3.2. 対象化合物の概要

水質編参照

3.3. 分析法フローチャート

秤取

試料 10g(乾土相当量)

アセトン抽出

- | アセトン 100ml を加え、30 分間振とう
- | ろ過(GFP)
- | 残留物：アセトン 50ml で再抽出，ろ過(ガラス繊維ろ紙)
ろ液を合せ，減圧濃縮，窒素乾固

C₁₈ C C

- | C₁₈ シリカミニカラム(例：BOND ELUT C₁₈(1g))
- | 予備洗浄：アセトニトリル 5ml，水 5ml
- | 洗い込み：水 10ml(超音波処理)
- | 洗浄：アセトニトリル - 水(1:1) 5ml
- | 溶出：アセトニトリル 10ml
- 減圧濃縮，窒素乾固

シリカゲル C C

- | シリカゲルミニカラム(例：Sep-Pak Plus シリカ(690mg))
- | 予備洗浄：ヘキサン - アセトン(95:5) 5ml
- | 溶出：ヘキサン - アセトン(95:5) 5ml × 2(洗い込み) + 15ml
- 減圧濃縮，窒素乾固

フロリジル C C(必要に応じ夾雑物が多い場合に実施)

- | フロリジルミニカラム(例：Sep-Pak Plus フロリジル(910mg))
- | 予備洗浄：ヘキサン 5ml
- | 洗い込み：ヘキサン 5ml × 2
- | 溶出：ヘキサン - ジエチルエーテル(7:3) 15ml
- 減圧濃縮，窒素乾固

GC/MSD 定量

アセトン 15ml 定容，2µl 注入

3.4. 検量線

ペルメトリン、シベルメトリン及びフェンバレレート標準品を別々にはかりとり、アセトンに溶解。1:2:1(最小検出量の場合は1:1:1)の割合で混合し、アセトン溶液で希釈して0.02, 0.025, 0.05, 0.1及び0.2mg/ml溶液(ペルメトリンは0.02, 0.05, 0.1, 0.2及び0.4mg/ml溶液)を調製。各溶液の2mlを注入し、ピーク高(フェンバレレートの場合はピーク面積)と各成分の重量から検量線を作成する。

3.5. 検出限界

検出限界 10 μ g/kg

最小検出量 0.04ng, 最終液量 15ml, 注入量 2ml, 試料採取量 10g

3.6. 測定機器操作条件例

機種(検出器): GC/ECD(⁶³Ni)

カラム: メチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム

(例: SPB-1, 0.53mm \times 5m, 膜厚 1.5 μ m)

温度: カラム 220, 注入口 250, 検出器 280

ガス流量: キャリヤー(He) 15ml/min(定流量), メイクアップ(N₂) 15ml/min

注入方式: ダイレクト注入法

保持時間: ペルメトリン 約 1.5分

シベルメトリン 約 2.2分

フェンバレレート 約 2.9分

3.7. 検討事項

3.7.1. その他のガスクロマトグラフ操作条件

[条件1] 機器(検出器): GC/ECD

カラム: メチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム

(例: SPB-1, 0.53mm \times 5m)

カラム温度: 220

[条件2] 機器(検出器): GC/ECD

カラム: メチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム

(例: SPB-1, 0.53mm \times 5m)

カラム温度: 180 (1min) 5 /min 225

[条件3] 機器(検出器): GC/ECD

カラム: 14%シアノプロピルフェニルメチルポリシロキサン化学結合型

キャピラリーカラム(例: DB-1701, 0.53mm \times 15m)

カラム温度: 220

3.8. 参考文献

- ・ 第26回日本環境化学会講演会予稿集, p.62~, 1998, 日本環境化学会編集

4. フェノキシ酢酸系化合物分析法

4.1. 分析法の概要

試料からアルカリ・アセトンで抽出後，エステル体を加水分解して，酸体に統一した後，メチルエステル化したものを GC/ECD 又は GC/MS(SIM) で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
2,4-ジクロロ フェノキシ酢酸	アルカリ・アセトン抽出 ジクロロメタン洗浄	10µg/kg
2,4,5-トリクロロ フェノキシ酢酸	アルカリ加水分解 ヘキサン - ジクロロメタン抽出 メチル化 ヘキサン抽出 シリカゲル C C GC/ECD 又は GC/MS(SIM)	

4.2. 対象化合物の概要

水質編参照

4.3. 分析法フローチャート

秤 取

試料 10g(乾土相当量)

アルカリ・アセトン抽出

- | 1mol/L 水酸化ナトリウム - アセトン(1:9) 30ml
- | 振とう 10min, 超音波処理 10min
- | 遠心分離(3000rpm, 10min), 上澄液分取
- | 上記の操作を 3 回繰り返す, 上澄液を合わせる
10ml まで濃縮(25)

加水分解

- | 1mol/L 水酸化ナトリウム溶液 10ml, メタノール 5ml
70 , 15 分

ジクロロメタン洗浄

ジクロロメタン 50ml

ヘキサン - ジクロロメタン抽出

- | 20%塩酸で pH 2 に調整
- | ヘキサン - ジクロロメタン(4:1) 50ml × 3
無水硫酸ナトリウムで脱水, 減圧濃縮, 窒素乾固

メチルエステル化

- | メタノール 0.5ml, ジアゾメタン - ジエチルエーテル 1ml
- | 室温(25), 60 分放置
窒素乾固

ヘキサン抽出

- | 5%塩化ナトリウム溶液 100ml
- | ヘキサン 50ml × 2
無水硫酸ナトリウムで脱水, 5ml まで減圧濃縮(25)

シリカゲル C C

- | 活性化シリカゲル 5g, ヘキサン充てん
- | 予備洗浄: ヘキサン 50ml

- | 洗い込み：ヘキサン 5ml × 3
- | 洗浄：ヘキサン 50ml , ヘキサン - ジエチルエーテル(95:5) 50ml
- | 溶出：ヘキサン - ジエチルエーテル(95:5) 120ml
5ml まで減圧濃縮(25)

GC/ECD or GC/MSD 定量

ヘキサン 10ml 定容 , 2μl 注入

4.4. 検量線

2,4-ジクロロフェノキシ酢酸及び2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸の標準品を別々にはかりとりアセトンに溶解し1000μg/mlを調製する。これを等量に混合し、アセトンで希釈して10μg/mlを調製する。この2ml(20μg)を分取し、上記と同様にメチルエステル化を行う。これをヘキサンで希釈して0.01~0.2μg/ml溶液を調製する。各溶液の2μlをGC/ECD又はGC/MSに注入し、検量線を作成する。

4.5. 検出限界

測定対象化合物の最小検出量及び検出限界を表4.2に示した。

表4.1 測定対象化合物の最小検出量と検出限界

対象化合物	最小検出量	検出限界
2,4-ジクロロフェノキシ酢酸	0.02ng	10μg/kg
2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸	0.02ng	10μg/kg

注：2,4-ジクロロフェノキシ酢酸及び2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸とも酸体としての値

4.6. 測定機器操作条件

[条件1：2,4-ジクロロフェノキシ酢酸測定用 GC/ECD]

機種(検出器)：GC/ECD(⁶³Ni)

カラム：5%フェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム
(例：DB-5, 0.53mm × 30m, 膜厚 1.5μm)

温度：カラム 180 , 注入口 280 , 検出器 280

ガス流量：キャリアー(He) 29.3ml/min

注入方式：ダイレクト注入法

[条件2：2,4-ジクロロフェノキシ酢酸測定用 GC/MS]

機種(検出器)：GC/MS(SIMモード)

カラム：トリフルオロプロピルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム
(例：Rtx-200, 0.25mm × 30m, 膜厚 0.25μm)

温度：カラム 50 (1min) 20 /min 280 (7min)

注入口 250 , インターフェイス 280

ガス圧力：キャリアー(He) 80kpa

注入方式：スプリットレス法 (パージ開始時間 注入後 1min)

イオン化法：EI
設定質量数：m/Z=234, 236

[条件3：2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸測定用 GC/ECD]

機種(検出器)：GC/ECD(⁶³Ni)

カラム：5%フェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム
(例：DB-5, 0.53mm×30m, 膜厚 1.5μm)

温度：カラム 180, 注入口 280, 検出器 280

ガス流量：キャリアー(N₂) 50ml/min

注入方式：ダイレクト注入法

4.7. 参考文献

- ・ 農薬残留分析法研究班編集 “最新農薬の残留分析法”, p.21 ~ , 1995, 中央法規出版
- ・ 第26回日本環境化学会講演会予稿集, p.68 ~ , 1998, 日本環境化学会編集

5. ジチオカルバマート系化合物分析法

5.1. 分析法の概要

試料から L-システイン+EDTA 溶液で抽出後,メチル化と同時にクロロホルム/ヘキサン混液に抽出, C₁₈+中性アルミナ(連結) C C で精製し, HPLC/UV で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
マンネブ マンゼブ ジネブ ジラム	システイン+EDTA 溶液抽出 メチル化-クロロホルム/ヘキサン混液抽出 C ₁₈ +中性アルミナ(連結) C C HPLC/UV	10μg/kg

5.2. 対象化合物の概要

水質編参照

5.3. 分析法フローチャート

秤 取

試料 10g(乾土相当量)

抽 出

| 15% L-システイン塩酸塩含有 15%エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム溶液
| 150ml (10mol/L 水酸化ナトリウムで pH 9.6~10 に調整したもの)
振とう 30 分間

遠心分離

3000rpm, 5 分間

上澄液

| 0.4mol/L 硫酸水素テトラブチルアンモニウム 5ml
| 塩酸(6mol/L 及び 2mol/L)を加えて pH 7.5~7.8 に調整

メチル化及びクロロホルム/ヘキサン抽出

| 0.1mol/L ヨウ化メチル含有クロロホルム/ヘキサン(3:1) 100ml × 2
| 脱水(液相分離ろ紙)
| L-システイン塩酸塩 0.1g 添加
| 20ml まで減圧濃縮
| アセトニトリル 20ml を加え, 再度 10ml まで減圧濃縮

C₁₈+中性アルミナ C C

| C₁₈ ミニカラム(例: ボンドエリート C₁₈(500mg)) +
| 中性アルミナミニカラム(例: Sep-Pak Plus アルミナ N(1710mg))
| C₁₈ ミニカラムが上になるように連結
| 予備洗浄: アセトニトリル 10ml
| 濃縮液負荷
| 洗浄: アセトニトリル 15ml
| C₁₈ ミニカラムを除去
| 溶出: アセトニトリル 20ml (中性アルミナミニカラム)
| L-システイン塩酸塩 0.1g
| 減圧濃縮, 窒素乾固

HPLC/UV 定量

アセトニトリル - 水(1:1) 4ml 定容, 40 μ l 注入

5.4. 検量線

マンゼブ及びジラム標準品を各々秤り取り純水に懸濁させ、各々100 μ g/ml 標準原液を調製する。この原液を等量ずつ分取し純水で希釈して 10 μ g/ml 標準混合溶液を調製する。この標準混合溶液 10ml に 15% L-システイン塩酸塩含有 15%エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム溶液(pH9.6~10) 50ml を加え、30 分間静置後 0.4mol/L 硫酸水素テトラブチルアンモニウム 5ml を加えた後、塩酸を用いて pH7.5~7.8 に調整する。ついでクロロホルム/ヘキサン転溶及びメチル化を行い、有機溶媒層に L-システイン塩酸塩 0.1g を加え減圧濃縮後、窒素乾固する。残留物を直ちにアセトニトリル - 水(1:1)に溶解し 1 μ g/ml 標準混合溶液を調製する。この標準混合溶液をアセトニトリル - 水(1:1)で希釈して 0.025~0.5 μ g/ml 標準溶液を調製しこの各 40 μ l を高速液体クロマトグラフに注入し、検量線を作成する。

なお、マンネブ及びジネブの回収試験に際しては、各化合物の検量線はそれぞれの標準品を用いて作成する。

5.5. 検出限界

ジチオカルバマート系化合物の最小検出量及び検出限界について、表 5.1 に示した。

表 5.1 ジチオカルバマート系化合物の最小検出量と検出限界

化合物	最小検出量	検出限界
ジネブ	1ng	10 μ g/kg
ジラム	1ng	10 μ g/kg
マンネブ	1ng	10 μ g/kg
マンゼブ	1ng	10 μ g/kg

5.6. 測定機器操作条件

機種(検出器) : HPLC/UV

カラム : シリカ ODS カラム

(例 : J'sphere ODS-H80 , 4.6mm x 15cm)

カラム槽温度 : 40

溶離液 : 水 - アセトニトリル(58:42)

流量 : 0.8ml/min

測定波長 : 272nm

保持時間 : ジラム(DMDC メチル) 7.1 分, マンゼブ(EBDC ジメチル) 8.5 分

5.7. 参考文献

- ・ 農薬残留分析法研究班編集 “最新農薬の残留分析法”, p.391 ~ , 1995, 中央法規出版

6. メソミル分析法

6.1. 分析法の概要

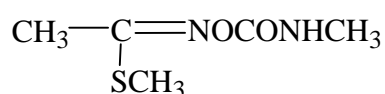
試料からアセトンで抽出後，液々分配で精製，アルカリ加水分解でメソミルオキシムを生成，液々分配で精製，GC/NPD で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
メソミル	アセトン抽出 ヘキサン洗浄 酢酸エチル抽出 加水分解 ヘキサン洗浄 ジクロロメタン抽出 GC/NPD	10µg/kg

6.2. 対象化合物の概要

1) メソミル

構造式：



化学式：C₅H₁₀N₂O₂S

分子量：162.2

化学名(IUPAC)：S-methyl N-(methylcarbamoyloxy)thioacetimidate

物理化学的性質

外 観：無色結晶

融 点：78～79 ， 蒸気圧：0.72mPa(25)

溶解性：水 57.9g/L

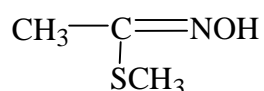
メタノール 1000，アセトン 730，エタノール 420，イソプロパノール 220，

トルエン 30(以上 g/kg, 25)

安定性：室温水溶液中で緩やかに分解

2) メソミルオキシム

構造式：



化学式：C₃H₇NOS

分子量：105.1

化学名(IUPAC)：methyl N-hydroxythioacetimidate

物理化学的性質

外 観：白色粉末

6.3. 分析法のフローチャート

秤 取

試料 10g(乾土相当量)

アセトン抽出

- | アセトン 150ml, 水 30ml を加え 30 分間振とう, ろ過
- | 残留物: アセトン 50ml × 2 で洗浄, ろ過
- | 10% L-システイン塩酸塩(pH7)* 10ml + 水 30ml
70ml まで減圧濃縮

ヘキサン洗浄

- | 塩化ナトリウム 5g
ヘキサン 100ml × 2[ヘキサン層はメトリブジン分析に使用]

酢酸エチル抽出

- | 0.5mol/L 硫酸 2ml
- | 酢酸エチル 100ml × 2
- | 無水硫酸ナトリウムで脱水
- | 2%ジエチレングリコール - アセトン 0.5ml
減圧濃縮, 窒素乾固

加水分解

- | 0.1mol/L 水酸化ナトリウム 30ml
90 , 30 分間加熱

ヘキサン洗浄

- | L-システイン塩酸塩 1g
ヘキサン 80ml

ジクロロメタン抽出

- | ジクロロメタン 80ml × 2
- | 無水硫酸ナトリウムで脱水
- | 2%ジエチレングリコール - アセトン 0.5ml
減圧濃縮, 窒素乾固

GC/NPD 定量

アセトン 2.5ml 定容, 2 μ l 注入

* L-システイン塩酸塩 10g を精製水約 80ml に溶解し, 2mol/l 水酸化ナトリウム溶液を加えて pH 7 に調整後, 蒸留水を加え 100ml に定容する。

6.4. 検量線

メソミルオキシムの標準品を秤り取りアセトンに溶解して 1000 μ g/ml 標準原液を調製する。この原液をアセトンで希釈して, 0.025 ~ 0.5 μ g/ml 溶液を数点調製し, この 2 μ l を GC/NPD に注入し, 検量線を作成する。

6.5. 検出限界

検出限界 10 μ g/kg

最小検出量 0.05ng(メソミルオキシムとして), 最終液量 2.5ml, 注入量 2 μ l
試料採取量 10g, メソミルへの換算係数 1.54*

$$* 1.54 = \frac{\text{メソミル分子量 } 162.2}{\text{メソミルオキシム分子量 } 105.1}$$

6.6. 測定機器操作条件

機種(検出器) : GC/NPD

カラム : ポリエチレングリコール化学結合型キャピラリーカラム

(例 : DB-WAX, 0.53mm \times 15m, 膜厚 1.0 μ m)

温度 : カラム 70 (1min) 20 /min 230 (1min)

注入口 250 検出器 250

ガス流量(圧力) : ヘリウム 35kPa, 水素 3ml/min, 空気 100ml/min

注入法 : スプリットレス法

6.7. 参考文献

- ・ 農薬残留分析法研究班編集 “最新農薬の残留分析法” p.416 ~ , 1995, 中央法規出版
- ・ 第26回日本環境化学会講演会予稿集, p.79 ~ , 1998, 日本環境化学会編集

7. カルベンダジム分析法

7.1. 分析法の概要

試料からメタノールで抽出後、液々分配で精製，HPLC/UV で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
カルベンダジム	メタノール抽出 酢酸エチル洗浄 ジクロロメタン抽出 HPLC/UV	5 μ g/kg

7.2. 対象化合物の概要

水質編参照

7.3. 分析法のフローチャート

秤 取

試料 10g(乾土相当量)

メタノール抽出

- | メタノール 50ml を加え 30 分間振とう，ろ過(ガラス繊維ろ紙)
- | 残留物：メタノール 20ml で洗浄，ろ過
10ml まで減圧濃縮

塩酸抽出

- | 濃縮液を酢酸エチル 50ml に溶解
0.1mol/L 塩酸 30ml \times 2

酢酸エチル洗浄

酢酸エチル 50ml 振とう洗浄

ジクロロメタン抽出

- | 飽和水酸化ナトリウム溶液及び 2.8%アンモニア水で pH 6.5~7 に調整
- | ジクロロメタン 50ml \times 2 に抽出
脱水(液相分離ろ紙)，減圧濃縮，窒素乾固

HPLC/UV 定量

メタノール 1ml 定容，20 μ l 注入

7.4. 検量線

カルベンダジム標準品をメタノールに溶解，希釈して 0.03~0.6 μ g/ml 溶液を数点調製し，それぞれ 20 μ l を HPLC/UV に注入し，検量線を作成する。

7.5. 検出限界

検出限界 3 μ g/kg

最小検出量 0.6ng，最終液量 1ml，注入量 20 μ l，試料採取量 10g

7.6. 測定機器操作条件

機種(検出器)：HPLC/UV

分離管：シリカ ODS カラム

(例：L-column ODS, 4.6mm × 250mm)

移動相：0.01mol/L リン酸一カリウム - メタノール(55:45)

分離管温度：40

流速：1.0ml/min

測定波長：285nm

保持時間：約 5.4 分

7.7. 参考文献

- ・ 農薬残留分析法研究班編集 “最新農薬の残留分析法” p.56～58, p.108～109, 1995,
中央法規出版

8. 1,2-ジブromo-3-クロロプロパン分析法

8.1. 分析法の概要

蒸留抽出装置を用い、試料からヘキサンに抽出後、GC/ECDで測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
1,2-ジブromo-3-クロロプロパン	蒸留抽出(ヘキサン捕集) GC/ECD	5 μ g/kg

8.2. 対象化合物の概要

水質編参照

8.3. 分析法フローチャート

秤取

試料 10g(乾土相当量)

蒸留抽出(Dean&Stark 抽出装置)

| 5%硫酸銅 5ml, ヘキサン 10ml

| 60 分間(沸とう後 20 分間)加熱還流抽出
ヘキサン層を脱水(液相分離紙)

GC/ECD 定量

1 μ l 注入

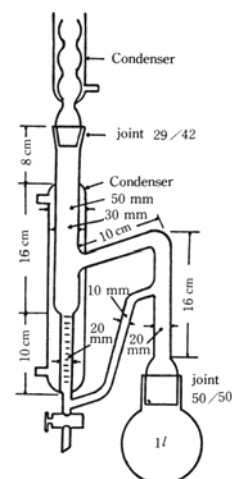


図 8.1 Dean&Stark 抽出装置

8.4. 検量線

1,2-ジブromo-3-クロロプロパン純品をあらかじめメタノール 95ml を入れた 100ml のメスフラスコに秤り取り、メタノールで定容して 1000 μ g/ml 標準原液を調製する。この原液をヘキサンで希釈して 0.005 ~ 0.1 μ g/ml 標準溶液を調製し、この 1 μ l を GC/ECD に注入し、検量線を作成する。

8.5. 検出限界

検出限界 5 μ g/kg

最小検出量 0.005ng, 注入量 1 μ l, 最終液量 10ml, 試料採取量 10g

8.6. 測定機器操作条件

機種(検出器) : GC/ECD(⁶³Ni)

カラム : 50%フェニルメチルポリシロキサン化学結合型キャピラリーカラム
(例 : DB-17, 0.25mm \times 30m, 膜厚 0.25 μ m)

温度 : カラム 60 (2min) 10 /min 140 30 /min 280 (6min)

注入口 250 , 検出器 280

ガス流量 : キャリヤー(He) 1.5ml/min, メイクアップ(N₂) 60ml/min

注入方法 : スプリットレス法(パーズ流量 50ml/min, パーズ開始時間 1.0min)

8.7. 参考文献

- ・ 第 26 回日本環境化学会講演会予稿集, p.101 ~ , 1998, 日本環境化学会編集

9. ペンタクロロフェノール分析法

9.1. 分析法の概要

試料から塩酸・アセトンで抽出，酢酸エチル転溶，シリカゲルCC及びアルミナCCで精製，HPLC/UVで測定する。

対象化合物	分析操作概要	検出限界
ペンタクロロフェノール	塩酸・アセトン抽出 酢酸エチル抽出 シリカゲルCC アルミナCC HPLC/UV	10µg/kg

9.2. 対象化合物の概要

水質編参照

9.3. 分析法のフローチャート

秤取

試料 10g(乾土相当量)

塩酸・アセトン抽出

- | 水 30ml，4mol/L 塩酸 5ml 及びアセトン 150ml を加え 30 分間振とう，ろ過
- | 残留物：アセトン 50ml × 2 で洗浄，ろ過
- | 1%ポリエチレングリコール - アセトン 0.5ml
40ml まで減圧濃縮

酢酸エチル転溶

- | アセトン 5ml，飽和塩化ナトリウム溶液 80ml
- | 酢酸エチル 100ml × 2 に転溶
- | 脱水ろ過
- | 1%ポリエチレングリコール - アセトン 0.5ml
減圧濃縮，窒素乾固

シリカゲルCC

- | 活性化シリカゲル 5g，ヘキサン充てん
- | 洗い込み，洗浄：ヘキサン - アセトン(95:5) 5ml + 20ml
- | 溶出：ヘキサン - アセトン(9:1) 100ml
- | 1%ポリエチレングリコール - アセトン 0.5ml
減圧濃縮，窒素乾固

アルミナCC

- | 塩基性アルミナ(例：Merck，art.1097) 5g，ヘキサン充てん
- | 洗い込み，洗浄：アセトン 5ml + 20ml
- | 洗浄：アセトン 50ml，アセトニトリル - 水(98:2) 45ml
- | 溶出：アセトニトリル - 水(95:5) 80ml
- | 1%ポリエチレングリコール - アセトン 0.5ml
減圧濃縮，窒素乾固

HPLC/UV 定量

アセトニトリル - 水(1:1) 4ml 定容，20µl 注入

9.4. 検量線

ペンタクロロフェノール標準品をアセトニトリルに溶解し，1000 μ g/ml 標準原液を調製する。この原液をアセトニトリル - 水(1:1)で希釈し，0.025 ~ 0.5 μ g/ml 標準溶液を数点調製し，それぞれ 20 μ l を HPLC/UV に注入し，検量線を作成する。

9.5. 検出限界

検出限界 10 μ g/kg

最小検出量 0.5ng，最終液量 4ml，注入量 20 μ l，試料採取量 10g

9.6. 測定機器操作条件

機種(検出器)：HPLC/UV

カラム：シリカ ODS カラム

(例：TSKgel ODS-80Ts， 4.6mm \times 250mm)

溶離液：アセトニトリル - 0.5%リン酸(6:4)

カラム槽温度：50

流量：1ml/min

測定波長：215nm

保持時間：約 15.3 分

9.7. 参考文献

- ・ 農薬公定検査法 昭和 47 年度版

10. アミトロール分析法

10.1. 分析法の概要

試料にアンモニア・エタノールを加えて加熱還流抽出，ヘキサン洗浄，ケイソウ土 C C ，陽イオン交換 C C ，HPLC/MS で測定する。

対象化合物	分析操作概要	検出限界
アミトロール	アンモニア・エタノール加熱還流抽出 ヘキサン洗浄 ケイソウ土 C C 陽イオン交換 C C HPLC/MS	10µg/kg

10.2. 対象化合物の概要

水質編参照

10.3. 分析法フローチャート

秤 取

試料 10g(乾土相当量)

加熱還流抽出

- | 2%アンモニア水 - メタノール 100ml
- | 75 ℃ , 3時間
- | 温かいうちに桐山漏斗を用いてろ過
- | 洗浄：エタノール 5ml × 2
- | 2%ジエチレングリコール - アセトン 0.5ml
- | 減圧濃縮，窒素乾固
- | 水 5ml，超音波処理

ヘキサン洗浄

- | ヘキサン 20ml × 2，振とう洗浄
- | 2%ジエチレングリコール - アセトン 0.5ml
- | プロパノール 30ml
- | 減圧濃縮，窒素乾固

多孔性ケイソウ土 C C

- | 保持容量 20ml の多孔性ケイソウ土カラム(例：ケムエルート CE1020)
- | 0.2mol/L リン酸緩衝液(pH6) *1 6ml に溶解，負荷，10 分間放置
- | 酢酸エチル - アセトン(9:1) 250ml で溶出
- | 2%ジエチレングリコール - アセトン 3 滴
- | 減圧濃縮，通風乾固

強酸性陽イオン交換 C C

- | 強酸性陽イオン交換樹脂，H⁺型，200-400mesh² 1ml
- | (例：ムロマック 50W × 8)
- | 洗い込み，洗浄：エタノール 5ml，水 5ml × 3
- | 溶出：20%アンモニア水 16ml
- | 2%ジエチレングリコール - アセトン 3 滴
- | プロパノール 40ml
- | 減圧濃縮，乾固

HPLC/MS 定量

アセトニトリル 4ml 定容, 4 μ l 注入

- *1 0.2mol/L リン酸二水素ナトリウム溶液に 0.2mol/L リン酸水素二ナトリウム溶液を等量に混合し, 塩酸で pH 6 に調整。
- *2 樹脂 500ml に 1mol/L 水酸化ナトリウム溶液 3L, 水 3L, 1mol/L 塩酸 2L を順次流下させ, 水を用いて中性になるまで洗浄。

10.4. 検量線

アミトロール標準品をアセトニトリルに溶解し, 1000 μ g/ml の標準原液を調製する。この原液をアセトニトリルでさらに希釈し, 0.025~0.5 μ g/ml 標準溶液を数点調製する。各溶液の 4 μ l を HPLC/MS に注入し, ピーク高と重量から検量線を作成する。

10.5. 検出限界

検出限界 10 μ g/kg

最小検出量 0.1ng, 最終液量 4ml, 注入量 4 μ l, 試料採取量 10g

10.6. 測定機器操作条件

機種(検出器) : HPLC/MS

[HPLC 部]

カラム : アミノプロピル基化学結合型シリカゲル充てんカラム
(例 : Nucleosil 100-5 NH₂, 2.1mm \times 15cm)

カラム槽温度 : 40

溶離液 : アセトニトリル - 0.2%酢酸(93:7)

流量 : 0.2ml/min

[MS 部]

イオン化方法 : API-ES(Positive)

選択イオン : m/z=85.1(1000m 秒)

フラグメンター電圧 : 70 V

ドラインガス : 10L/min(350)

ネプライザーガス : 35psi

キャピラリー電圧 : 3500 V