

# 農薬等の環境残留実態調査分析法

## 水生生物編

## 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 - ヘキサン混液で抽出後、ヘキサン - アセトニトリル分配、フロリジル C C 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
ヘキサクロロベンゼン クロルデン(cis, trans) trans-ノナクロル	アセトン - ヘキサン抽出 水洗浄 ヘキサン - アセトニトリル分配 ヘキサン抽出 フロリジル C C GC/MS(SIM)	2μg/kg
ヘキサクロロシクロヘキサン ( , , 体) DDT, DDD, DDE (各 p,p'体, o,p'体)		5μg/kg
アルドリン, ヘプタクロル ヘプタクロルエポキシド エンドスルファン(SO <sub>2</sub> 体)		10μg/kg
ケルセン, メトキシクロル		20μg/kg
エンドリン, ディルドリン オキシクロルデン エンドスルファン( 体)		30μg/kg
エンドスルファン( 体)		40μg/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 5g
- | サロゲート\* 各 0.1μg 添加

#### アセトン - ヘキサン抽出

- | アセトン - ヘキサン(1:2) 60ml を加え 2 分間ホモジナイズ
- | 遠心分離(3000rpm, 10 分間)
- | 残留物: アセトン - ヘキサン(1:2) 60ml で再抽出, 遠心分離

#### 水洗浄

- | 水 100ml × 2 で抽出液を緩やかに振とう洗浄
- | 無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過
- | 20ml まで減圧濃縮

#### ヘキサン - アセトニトリル分配

- | ヘキサン飽和アセトニトリル 40ml × 2 抽出
- | 水 5ml を加え緩やかに振とう, 静置後アセトニトリル層分取

#### ヘキサン抽出

- | 5%塩化ナトリウム溶液 500ml
- | ヘキサン 50ml × 2 抽出

- | 無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過  
減圧濃縮，溶媒留去

**フロリジルCC**

- | フロリジルカートリッジカラム(例：Sep-Pak VAC フロリジル(10g))
- | 予備洗浄：ヘキサン - ジエチルエーテル(1:1) 20ml
- | 洗い込み，溶出：ヘキサン - ジエチルエーテル(1:1) 100ml  
ノナン 2滴，減圧濃縮，溶媒留去

**GC/MS 定量**

内標準物質<sup>\*2</sup> 各 0.1μg/ml ヘキサン溶液 1ml 定容，1μl 注入

\*1 ヘキサクロロベンゼン-13C6，p,p'-DDT-d4

\*2 フェナントレン-d10，フルオランテン-d10，p-ターフェニル-d14

1.4. 検量線

対象化合物の標準品をヘキサンに溶解し，100μg/ml を調製する。これらを表 1.1 に記載した最小検出量の比で混合し，さらにヘキサンで希釈して 0.01～3μg/ml の混合標準溶液を数点調製する。内標準物質もヘキサンに溶解して 100μg/ml を調製し，各標準溶液中の濃度が 0.1μg/ml となるようにヘキサンで希釈，混合する。各溶液の 1μl を GC/MS に注入し，ピーク面積比と濃度比から内標準法による検量線を作成する。

1.5. 検出限界

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	最小検出量	検出限界
ヘキサクロロシクロヘキサン( , , , 体)	0.025ng	5μg/kg
DDT(p,p', o,p'体)	0.025ng	5μg/kg
DDD(p,p', o,p'体)	0.025ng	5μg/kg
DDE(p,p', o,p'体)	0.025ng	5μg/kg
アルドリン	0.05ng	10μg/kg
ディルドリン	0.15ng	30μg/kg
エンドリン	0.15ng	30μg/kg
ヘプタクロル	0.05ng	10μg/kg
ヘプタクロルエポキシド	0.05ng	10μg/kg
ケルセン	0.1ng	20μg/kg
メトキシクロル	0.1ng	20μg/kg
ヘキサクロロベンゼン	0.01ng	2μg/kg
クロルデン(cis, trans 体)	0.01ng	2μg/kg
trans-ノナクロル	0.01ng	2μg/kg
オキシクロルデン	0.15ng	30μg/kg
エンドスルファン( 体)	0.2ng	40μg/kg
エンドスルファン( 体)	0.15ng	30μg/kg
エンドスルファン(SO <sub>2</sub> 体)	0.05ng	10μg/kg

1.6. 測定機器操作条件例

機種(検出器) : GC/MS(SIM モード)

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-5ms , 0.25mm × 30m , 膜厚 0.25μm)

温度 : カラム 50 (1min) 10 /min 300 (10min)

注入口 250 , インターフェイス 280 , イオン源 230

ガス流速 : キャリヤー(He) 平均線速度 40cm/sec

注入方式 : スプリットレス法(パージ開始時間 注入後 1min)

イオン化電圧 : 70eV

イオン化法 : EI

検出器電圧 : 2.0kV

測定イオン : 表 1.2 参照

表 1.2 有機塩素系化合物の保持時間及び測定イオン

対象物質	保持時間 (分)	定量イオン (m/z)	確認イオン (m/z)
- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> ベンゼン	16.88	181.00	219.00
- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> ベンゼン	17.44	181.00	219.00
- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> ベンゼン	17.65	181.00	219.00
- <sup>13</sup> C <sub>6</sub> ベンゼン	18.27	181.00	219.00
p,p'-D D T	23.69	235.10	237.10
o,p'-D D T	23.00	235.10	237.10
p,p'-D D D	22.93	235.10	237.10
o,p'-D D D	22.21	235.10	237.10
p,p'-D D E	22.06	246.10	248.05
o,p'-D D E	21.40	246.10	318.10
アルドリン	20.09	262.95	264.95
ディルドリン	22.26	262.95	277.00
エンドリン	22.71	262.95	281.05
ヘプタクロル	19.30	271.90	236.90
ヘプタクロルエポキシド	20.89	353.00	355.00
ヘキサクロロベンゼン	16.96	283.90	285.90
ケルセン	20.29	139.05	250.05
メトキシクロル	24.81	227.20	228.20
trans-クロルデン	21.40	372.85	374.85
cis-クロルデン	21.68	372.85	374.85
trans-ノナクロル	21.73	408.95	406.85
オキシクロルデン	20.90	185.00	387.00
-エンドスルファン	21.73	339.05	240.95
-エンドスルファン	22.89	339.05	240.95
エンドスルファン(SO <sub>2</sub> 体)	23.70	271.90	387.00
p,p'-D D T-d4	23.68	243.10	173.15
<sup>13</sup> C <sub>6</sub> ベンゼン-13C6	16.96	289.90	291.90
フェナントレン-d10	17.97	188.20	-
フルオランテン-d10	21.07	212.20	-
p-ターフェニル-d14	22.19	244.25	-

## 2. トリアジン系，有機リン系，合成ピレスロイド系及びその他の化合物分析法

### 2.1. 分析法の概要

試料からアセトニトリルで抽出後，ヘキサン - アセトニトリル分配，ジクロロメタン抽出，フロリジルCC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，ニトロフェン	アセトニトリル抽出 ヘキサン - アセトニトリル分配 ジクロロメタン抽出 フロリジルCC GC/MS(SIM)	2µg/kg
エチルパラチオン，メトリブジン		5µg/kg
ペルメトリン，シペルメトリン		8µg/kg
ピンクロゾリン，フェンバレレート		10µg/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 5g

#### アセトニトリル抽出

- | アセトニトリル 30ml を加え 10 分間ホモジナイズ，10 分間超音波処理
- | 遠心分離(3000rpm，5 分間)
- | 残留物：アセトニトリル 30ml で再抽出，遠心分離を 2 回繰り返し

#### ヘキサン - アセトニトリル分配

- | アセトニトリル飽和ヘキサン 10ml，5 分間振とう
- | アセトニトリル層分取
- | 水 5ml を加え緩やかに振とう
- | アセトニトリル層分取

#### ジクロロメタン抽出

- | 5%塩化ナトリウム溶液 300ml
- | ジクロロメタン 30ml × 2 抽出
- | 無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過
- | 減圧濃縮，溶媒留去

#### フロリジルCC

- | フロリジルカートリッジカラム(例：Sep-Pak VAC フロリジル(10g))
- | 予備洗浄：ヘキサン - ジエチルエーテル(1:1) 20ml
- | 洗い込み，溶出：ヘキサン - ジエチルエーテル(1:1) 100ml
- | ノナン 2 滴，減圧濃縮，溶媒留去

#### GC/MS 定量

内標準物質\* 各 0.1µg/ml アセトン溶液 1ml 定容，1µl 注入

\* フェナントレン-d10，フルオランテン-d10，クリセン-d12，ペリレン-d12

#### 2.4. 検量線

対象化合物の標準品をアセトンに溶解し，1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$  を調製する。これらを表 2.1 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て 0.01～1 $\mu\text{g}/\text{ml}$  の混合標準溶液を数点調製する。内標準物質もアセトンに溶解して 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$  を調製し，各標準溶液中の濃度が 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$  となるようにアセトンで希釈，混合する。各溶液の 1 $\mu\text{l}$  を GC/MS に注入し，ピーク面積比と濃度比から内標準法による検量線を作成する。

#### 2.5. 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 2.1 に示した。

表 2.1 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	0.01ng	2 $\mu\text{g}/\text{kg}$
アトラジン	0.01ng	2 $\mu\text{g}/\text{kg}$
N A C	0.01ng	2 $\mu\text{g}/\text{kg}$
エチルパラチオン	0.025ng	5 $\mu\text{g}/\text{kg}$
馬拉チオン	0.01ng	2 $\mu\text{g}/\text{kg}$
ニトロフェン	0.01ng	2 $\mu\text{g}/\text{kg}$
C A T	0.01ng	2 $\mu\text{g}/\text{kg}$
トリフルラリン	0.01ng	2 $\mu\text{g}/\text{kg}$
ピンクロゾリン	0.05ng	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$
メトリブジン	0.025ng	5 $\mu\text{g}/\text{kg}$
ペルメトリン	0.04ng	8 $\mu\text{g}/\text{kg}$
シペルメトリン	0.04ng	8 $\mu\text{g}/\text{kg}$
フェンバレレート	0.05ng	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$

#### 2.6. 測定機器操作条件例

機種(検出器) : GC/MS(SIM モード)

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-5ms , 0.25mm  $\times$  30m , 膜厚 0.25 $\mu\text{m}$ )

温度 : カラム 50 (1min) 20 /min 200 5 /min 280 (10min)  
注入口 250 , インターフェイス 280 , イオン源 230

ガス流速 : キャリヤー(He) 平均線速度 40cm/sec

注入方式 : スプリットレス法(パージ開始時間 注入後 1min)

イオン化電圧 : 70eV

イオン化法 : EI

検出器電圧 : 2.0kV

測定イオン : 表 2.2 参照

表 2.2 分析対象化合物の保持時間及び測定イオン

対象化合物	保持時間 (分)	定量イオン (m/z)	確認イオン (m/z)
N A C	13.15	144.10	115.10
C A T	11.30	201.20	186.20
アトラジン	11.38	200.20	215.20
トリフルラリン	10.49	306.20	264.10
メトリブジン	12.83	144.10	198.20
アラクロール	12.99	188.20	160.15
ピンクロゾリン	12.89	212.15	285.15
マラチオン	13.71	173.15	158.00
エチルパラチオン	14.14	186.05	291.05
ニトロフェン	17.57	283.10	202.15
ペルメトリン	24.35 24.60	183.20	163.10
シペルメトリン	26.28 26.46 26.59 26.70	181.20	163.10
フェンバレレート	28.61 29.24	167.15	225.25
フェナントレン-d10	12.02	188.20	-
フルオランテン-d10	15.43	212.15	-
クリセン-d12	21.14	240.30	-
ペリレン-d12	27.64	264.25	-

### 3. フェノキシ酢酸系化合物分析法

#### 3.1. 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、メチルエステル化したものを 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 2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸	アルカリ・アセトン抽出 アルカリ加水分解 ジ クロロメタン洗浄 ジクロロメタン - ヘキサン 抽出 メチル化 シリカゲル C C GC/MS(SIM)	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 5g

##### アルカリ・アセトン抽出

- | 2,4-D-d3 0.2µg 添加
  - | 1mol/L 水酸化ナトリウム - アセトン(1:9) 30ml を加え 10 分間ホモジナイズ
  - | 10 分間超音波処理, 遠心分離(3000rpm, 5 分間)
  - | 残留物: 1mol/L 水酸化ナトリウム - アセトン(1:9) 30ml で再抽出, 遠心分離を
  - | 2 回繰り返す
- 減圧濃縮

##### 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 30ml

##### ジクロロメタン - ヘキサン抽出

- | 20%塩酸で pH 2 に調整
  - | ジクロロメタン - ヘキサン(1:4) 30ml × 3
- 無水硫酸ナトリウムで脱水, 減圧濃縮, 溶媒留去

##### メチルエステル化

- | ヘキサン 1ml, 酢酸エチル 0.5ml, メタノール 0.5ml に溶解
  - | 10%トリメチルシリルジアゾメタン - ヘキサン 0.1ml 添加
  - | 室温, 60 分間放置
- 窒素ガス吹き付け, 溶媒留去

##### 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 - ジエチルエーテル(95:5) 10ml
  - | 洗い込み, 溶出: ヘキサン - ジエチルエーテル(95:5) 10ml
- 窒素乾固



GC/MSD 定量

内標準物質\* 0.1µg/ml アセトン 1ml 定容, 1µl 注入

\* フェナントレン-d10

3.4. 検量線

各標準品を 4%エタノール含有ヘキサンに溶解し, 1000µg/ml 標準原液を調製する。これを等量混合した後, ヘキサンで希釈して 0.05 ~ 1 µg/ml の標準溶液を数点調製する。内標準物質もヘキサンに溶解し, 100µg/ml 標準原液を調製し, さらにヘキサンで希釈して 0.1 µg/ml 溶液を調製する。各標準溶液 1ml をスピッツ管にとり 酢酸エチル 0.5ml ,メタノール 0.5ml , 10%トリメチルシリルジアゾメタン - ヘキサン溶液 0.1ml を加えて 1 時間室温に放置し, メチル化を行う。これに窒素ガスを吹き付けて乾固直前まで濃縮後, 0.1 µg/ml 内標準溶液 1ml に溶解する。各溶液の 1µl を GC/MS に注入し, ピーク面積比と濃度比から内標準法による検量線を作成する。

3.5. 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 3.1 に示した。

表 3.1 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`クロロフェニル酢酸	0.05ng	10µg/kg
2,4,5-トリクロロフェニル酢酸	0.05ng	10µg/kg

注：2,4-ジ`クロロフェニル酢酸及び 2,4,5-トリクロロフェニル酢酸とも酸体としての値

3.6. 測定機器操作条件

機種(検出器)：GC/MS(SIM モード)

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-5ms, 0.25mm×30m, 膜厚 0.25µm)

温度：カラム 50 (1min) 10 /min 300 (10min)

注入口 250 , インターフェイス 280 , イオン源 230

ガス流速：キャリアー(He) 平均線速度 40cm/sec

注入方式：スプリットレス法(パージ開始時間 注入後 1min)

イオン化電圧：70eV

イオン化法：EI

検出器電圧：2.0kV

測定イオン：表 3.2 参照

表 3.2 測定対象化合物の保持時間及び測定イオン

対象化合物	保持時間 (分)	定量イオン (m/Z)	確認イオン (m/Z)
2,4-ジ`クロロフェニル酢酸	9.59	234.00	236.05
2,4,5-トリクロロフェニル酢酸	10.89	268.10	270.05
2,4-ジ`クロロフェニル酢酸-d3	9.61	237.00	239.05
フェナントレン-d10	11.16	188.20	-

#### 4. ジチオカルバマート系化合物分析法

##### 4.1. 分析法の概要

試料から L-システイン+EDTA 溶液で抽出と同時にクロロホルム洗浄後，メチル化と同時にジクロロメタン/ヘキサン混液に抽出，中性アルミナ C C 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
マンネブ マンゼブ ジネブ ジラム	L-システイン+EDTA 溶液抽出-クロロホルム洗浄 メチル化-ジクロロメタン/ヘキサン混液抽出 中性アルミナ C C HPLC/UV	10µg/kg

##### 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 20g

###### 抽出-クロロホルム洗浄

- | クロロホルム 30ml
- | 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 70ml  
(10mol/l 水酸化ナトリウムで pH 9.6 ~ 10 に調整したもの)
- | 10 分間ホモジナイズ，60 分間放置
- | 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
- | 2mol/L 塩酸で pH 7.5 ~ 7.8 に調整

###### メチル化及びジクロロメタン/ヘキサン抽出

- | 0.05mol/L ヨウ化メチル含有ジクロロメタン/ヘキサン(3:1) 70ml x 2
- | 遠心分離(3000rpm，5 分間)
- | 液相分離ろ紙で脱水ろ過
- | L-システイン塩酸塩 0.1g 添加
- | 減圧濃縮，溶媒留去

###### 中性アルミナ C C

- | 中性アルミナミニカラム(例：Sep-Pak Plus アルミナ N(1710mg))
- | 予備洗浄：アセトニトリル 5ml
- | 洗い込み，溶出：アセトニトリル 30ml
- | L-システイン塩酸塩 0.1g
- | 減圧濃縮，窒素乾固

###### HPLC/UV 定量

水 - アセトニトリル(6:4) 2ml 定容，20µl 注入

#### 4.4. 検量線

マンゼブ及びジラム標準品を各々秤り取り 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に懸濁して、各々200 $\mu$ g/ml 溶液を調製する。各々の溶液を 1:1 の割合で混合し、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で希釈して 10 $\mu$ g/ml 混合溶液を調製する。この 5ml を用いて 4.3.の分析操作のメチル化までを行い、水 - アセトニトリル - 水(6:4)に溶解、希釈して 0.1~1 $\mu$ g/ml 溶液を調製する。各溶液の 20 $\mu$ l を HPLC に注入し、検量線を作成する。

#### 4.5. 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 4.1 に示した。

表 4.1 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
マンゼブ	2ng	10 $\mu$ g/kg
ジラム	2ng	10 $\mu$ g/kg

#### 4.6. 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 : Wakosil 5C18HG , 4.6mm  $\times$  25cm , 粒径 5 $\mu$ m)

カラム槽温度 : 40

溶離液 : 水 - アセトニトリル(6:4)

流量 : 0.75ml/min

測定波長 : 272nm

保持時間 : ジラム(DMDC メチル) 11.5 分 , マンゼブ(EBDC ジメチル) 14.5 分

## 5. メソミル分析法

### 5.1. 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/MS/MS で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
メソミル	メタノール抽出 ヘキサン洗浄 ジクロロメタン抽出 HPLC/MS/MS	2 $\mu$ g/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 5g

#### メタノール抽出

- | メタノール 30ml，10 分間ホモジナイズ，10 分間超音波処理
- | 遠心分離(3000rpm，5 分間)

残留物：メタノール 30ml で再抽出，遠心分離

#### ヘキサン洗浄

- | 10%塩化ナトリウム溶液 300ml
- | ヘキサン 30ml  $\times$  2 振とう洗浄

#### ジクロロメタン抽出

- | ジクロロメタン 30ml  $\times$  3
- | 無水硫酸ナトリウムで脱水

減圧濃縮，窒素乾固

#### HPLC/MS/MS 定量

アセトニトリル 20ml 定容，10 $\mu$ l 注入

### 5.4. 検量線

メソミル標準品を秤り取りメタノールに溶解して 1000 $\mu$ g/ml 標準原液を調製する。この原液を水 - アセトニトリル(3:1)で希釈して，0.0005~0.01 $\mu$ g/ml 溶液を数点調製し，各溶液の 10 $\mu$ l を HPLC/MS/MS に注入し，検量線を作成する。

### 5.5. 検出限界

検出限界 2 $\mu$ g/kg

最小検出量 0.005ng，最終液量 20ml，注入量 10 $\mu$ l，試料採取量 5g

## 5.6. 測定機器操作条件

機種(検出器) : HPLC/MS/MS

[HPLC 部]

カラム : シリカ ODS カラム

(例 : Inertsil ODS-2 , 2.1mm × 15cm , 粒径 5 $\mu$ m)

溶離液 : 水 - アセトニトリル(3:1)

流 量 : 0.2ml/分

カラム槽温度 : 40

[MS/MS 部]

イオン化法 : ESI(positive)

イオン化電圧 : 5200V

コリジョンガス : N<sub>2</sub>

コリジョンエネルギー : 12.2eV

測定モード : MRM

ネブライザーガス : 25psi

ターボヒーターガス : 60psi

カーテンガス : 20psi

イオン源温度 : 400

測定イオン : 表 5.1 参照

表 5.1 メソミルの保持時間及び測定イオン

対象化合物	保持時間 (分)	プリカーサイオン (m/Z)	ブランチイオン (m/Z)
メソミル	4.4	185.0	128.0

## 6. カルベンダジム分析法

### 6.1. 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/MS/MS 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 ヘキサン洗浄 ジクロロメタン 洗浄 ジクロロメタン抽出 HPLC/MS/MS	2 $\mu$ g/kg

### 6.2. 対象化合物の概要

水質編参照

### 6.3. 分析法フローチャート

#### 秤 取

試料 5g

#### メタノール抽出

- | メタノール 50ml を加え 5 分間ホモジナイズ，遠心分離(3000rpm，5 分間)
- 残留物：メタノール 50ml で再抽出，遠心分離

#### ヘキサン洗浄

- | 水 3ml，ヘキサンを飽和になるまで加える
- ヘキサン 20ml  $\times$  3 で振とう洗浄

#### ジクロロメタン洗浄

- | 5%塩化ナトリウム溶液 300ml，塩酸 1ml
- ジクロロメタン 30ml  $\times$  2 で振とう洗浄

#### ジクロロメタン抽出

- | 水酸化ナトリウム溶液(1mol/L 及び 0.1mol/L)で pH 6.5 に調整
- | ジクロロメタン 50ml + 30ml に抽出
- 無水硫酸ナトリウムで脱水，減圧濃縮，窒素乾固

#### HPLC/MS/MS 定量

アセトニトリル 20ml 定容，10 $\mu$ l 注入

### 6.4. 検量線

カルベンダジム標準品をメタノールに溶解し，100  $\mu$ g/ml 標準原液を調製する。これを水 - アセトニトリル(3:1)で希釈して 0.0005 ~ 0.01 $\mu$ g/ml 溶液を数点調製する。各々 10  $\mu$ l を HPLC/MS/MS に注入し，検量線を作成する。

### 6.5. 検出限界

検出限界 2 $\mu$ g/kg

最小検出量 0.005ng，最終液量 20ml，注入量 10 $\mu$ l，試料採取量 5g

## 6.6. 測定機器操作条件

機種(検出器) : HPLC/MS/MS

[HPLC 部]

カラム : シリカ ODS カラム

(例 : Inertsil ODS-2 , 2.1mm × 15cm , 粒径 5 $\mu$ m)

溶離液 : 水 - アセトニトリル(3:1)

流 量 : 0.2ml/分

カラム槽温度 : 40

[MS/MS 部]

イオン化法 : ESI(positive)

イオン化電圧 : 5200V

コリジョンガス : N<sub>2</sub>

コリジョンエネルギー : 28.2eV

測定モード : MRM

ネブライザーガス : 25psi

ターボヒーターガス : 60psi

カーテンガス : 20psi

イオン源温度 : 400

測定イオン : 表 6.1 参照

表 6.1 カルベンダジムの保持時間及び測定イオン

対象化合物	保持時間 (分)	プリカーサイオン (m/Z)	フラグメントイオン (m/Z)
カルベンダジム	6.6	192.0	160.0

## 7. 1,2-ジブロモ-3-クロロプロパン分析法

### 7.1. 分析法の概要

試料からメタノールで抽出，蒸留抽出装置を用い，ヘキサンに捕集後，GC/MS(SIM)で測定する。

対象化合物	分析操作概略	検出限界
1,2-ジブロモ-3-クロロプロパン	メタノール抽出 蒸留抽出(ヘキサン捕集) GC/MS(SIM)	10 $\mu$ g/kg

### 7.2. 対象化合物の概要

水質編参照

### 7.3. 分析法フローチャート

**秤取**

試料 10g

**メタノール抽出**

| メタノール 10ml，10 分間ホモジナイズ  
5 分間超音波処理，全量をフラスコに移す

**蒸留抽出**(Dean&Stark 抽出装置)

| 水 250ml，塩化カルシウム 10g  
| ヘキサン 10ml  
| 留出後 90 分間加熱還流  
| 留液(ヘキサン層)分取  
内標準物質(フェナントレン-d10 0.5 $\mu$ g)添加

**GC/MS 定量**

1 $\mu$ l 注入

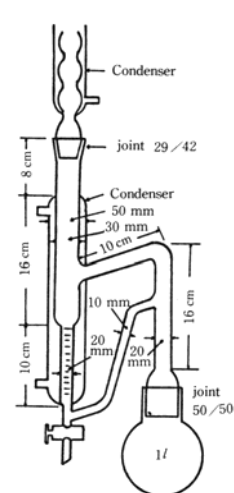


図 7.1 Dean&Stark 抽出装置

### 7.4. 検量線

1,2-ジブロモ-3-クロロプロパン標準品をヘキサンに溶解し，1000 $\mu$ g/ml 標準原液を調製する。これをヘキサンで希釈して 0.01~0.2 $\mu$ g/ml 溶液を数点調製する。内標準物質もヘキサンに溶解し，100 $\mu$ g/ml 溶液を調製し，各標準溶液中の濃度が 0.05  $\mu$ g/ml 溶液となるようにヘキサンで希釈，混合する。各溶液の 1 $\mu$ l を GC/MS に注入し，ピーク面積比と濃度比から内標準法による検量線を作成する。

### 7.5. 検出限界

検出限界 10 $\mu$ g/kg

最小検出量 0.01ng，注入量 1 $\mu$ l，最終液量 10ml，試料採取量 10g