

フルアジホップブチル試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

フルアジホップブチル、フルアジホップ酸、フルアジホップ P ブチル、フルアジホップ P 酸

2. 適用食品

農産物

3. 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及びガスクロマトグラフ・質量分析計を用いる。

4. 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。

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

フルアジホップブチル 本品はフルアジホップブチル 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出法

① 豆類及び種実類の場合

検体を 425 μ m の標準網ふるいを通るように粉碎した後、その 10.0 g を量り採り、水 20 mL 加え、2 時間放置する。これにアセトン 100 mL 及び 4 mol/L 塩酸 5 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°C 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°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 *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、100 mL の分液漏斗に移す。これに *n*-

ヘキサン 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°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。

② 果実、野菜及びホップの場合

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、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 及び 4 mol/L 塩酸 5 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°C 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°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。

2) 加水分解

1) 抽出法で得られた残留物にメタノール 20 mL を加えて溶かし、100 mL のナス型フラスコに移し、1.5 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 10 mL を加える。これに還流冷却器を取り付けて、80°C 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°C 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 300 mL 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 50 mL 及び 10% 塩化ナトリウム溶液 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、水層を 300 mL の分液漏斗（II）に移す。これに 4 mol/L 塩酸を加えて pH 1 以下に調整し、酢酸エチル 50 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、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とろ過する。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°C 以下で約 1 mL に濃縮する。

3) ブチルエステル化

2) 加水分解で得られた溶液を 20 mL 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 1 mL 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°C 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 50 mL 及び *n*-ヘキサン 50 mL を入れた 200 mL 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 200 mL の三角フラスコに移す。水層に *n*-ヘキサン 50 mL 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とろ過する。次いで *n*-ヘキサン 10 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 2 mL に濃縮する。

4) 精製法

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合成ケイ酸マグネシウム 5 g 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 5 g 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 3) 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) 50 mL 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 (1 : 1) 100 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 5 mL として、これを試験溶液とする。

6. 操作法

1) 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

(例)

カラム 内径 0.25 mm、長さ 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 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。

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℃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。フルアジホップブチルが約 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。

2) 定量試験

1) 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。

3) 確認試験

2) 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. 定量限界

0.01 mg/kg

8. 留意事項

- 1) フルアジホップブチルの分析値には、フルアジホップブチル、フルアジホップ酸、フルアジホップ P 酸及びフルアジホップ P ブチルが含まれる。
- 2) フルアジホップ酸をフルアジホップとして、フルアジホップ P 酸をフルアジホップ P として市販している標準品があるので、分析実施の際は留意すること。

9. 参考文献

なし

10. 類型

A