解説

環境庁告示による残留農薬の分析方法 (その 1)
殺 虫 剤

後 藤 真 康

財団法人残留農薬研究所
(昭和 53 年 1 月 17 日受理)Analytical Methods of Pesticide Residues Based on
the Notification of Environmental Agency (Part 1)
Insecticides

Shinkō GOTO

Institute of Environmental Toxicology, Kodaira, Tokyo 187, Japan

緒 言

残留農薬の分析方法に関しては, Zweig の成書¹⁾をはじめきわめて数多くの報告が発表されており, 分析の実施にあたってどの方法を選ばよいかまようくらいである. その反面, 既存の方法を若干改変して分析が行なわれている農薬については分析法がほとんど発表されていないうらみがある. 食品衛生法に基づく食品の規格基準として残留基準が告示されている農薬については, 残留基準とあわせてその検査方法が告示され, また, これについてはすでに詳しい解説も発表されている^{2,3)}. しかし, そこでとりあげられている農薬は表 1 に示す 24 種にすぎない. 食品衛生法に基づく基準の定められていない農薬については, 農薬取締法に基づき農薬を登録する際, 残留農薬による汚染が人畜に被害を与えるおそれが

あるかどうかを判断する基準として, 環境庁長官が残留基準を定めて告示している. この基準は昭和 48 年 7 月から 52 年 5 月までに既に 70 種の農薬について定められており, 基準値は農薬科学および本誌に逐次掲載されてきたが⁴⁾, 一覧表として表 2 に示す. これらの農薬については基準値の告示と同時にその検査方法も告示されている. しかしその本文は官報に掲載されるのみで一般の目にふれることが少ない. そこで本稿では, 環境庁の告示した分析方法の内容をできるだけ簡単に整理して掲載することとした. これにより, 個々の農薬の分析の参考に供するとともに, 全体を通覧することにより分析法の統一化や多成分分析法の作成のためにも役立つことを期待する. なお, 頁数の関係で今回は殺虫剤だけにしぼり, 逐次, 他の薬剤も掲載する予定である.

この検査方法は, 農薬の登録申請にあたり申請者が提出した分析方法をもとに農業資材審議会農薬部会の専門委員が審議して原案を作成し設定されたものである. したがってわが国では現状でもっともオーソライズされたものであり, 当該農薬の残留分析に十分の精度と感度をもつものといえる. しかし, 厚生省告示の検査方法と異なり, 多成分の同時分析は考慮されておらず, また, 素姓がまったく未知の検体を分析するのにこれで十分であるかどうかは検討の余地がある. また, 多年にわたって逐次設定されたものであるから, 現時点では必ずしも最良とはいえないものもある. 試料によってはこの方法ではクリンアップが不十分の場合もある反面, この方法に

表 1 食品衛生法に基づく残留基準の定められている農薬 (設定順)

ヒ素 (As_2O_3), 鉛, DDT, BHC, エンドリン, ディルドリン (アルドリンを含む), パラチオン, EPN, マラソン, ジメトエート, DDVP (ジクロルボス), PAP (フェントエート), MPP (フェンチオン), MEP (フェニトロチオン), ダイアジノン, CVP (クロルフェンビンホス), NAC (カルバリル), クロルベンジレート, ケルセン (ジコホル), 水酸化トリシクロヘキシルスズ, 無機臭素, キャプタン, ダイホルタン (カプタホル)

表2 環境庁告示による残留基準
(52.5.20まで)

農薬名	告示年月日	残留基準					
		米	麦・雑穀	果実	野菜	いも類 豆類 茶	その他
(殺虫剤)							
① イソキサチオン	51.12.10			0.2	0.1		5.0
② エチオン	51. 6.11			0.3	0.3		0.3
③ エチルチオメトン	49. 9.26	0.1		0.1	0.1	0.1	
④ クロルピリホス	50. 8. 4			0.5			
⑤ クロルフェナミジン	49. 9. 9	0.1		2.0	0.6		0.6
⑥ クロルプロピレート	49. 4.24			3.0			
⑦ ジアリホル	52. 5.20			0.04	0.01		0.1
⑧ ジメトエート	48. 7.24	1.0		1.0	1.0		なつみかん外皮 5.0
⑨ テトラジホン	49. 9. 9			1.0	1.0		1.0
⑩ ペンゾエビン	49. 9. 9			0.5	0.5	0.5	かんきつ 3.0
⑪ ペンゾメート	51. 6.11			5.0			てんさい 0.5
⑫ ホサロン	51. 3. 4			1.0	0.5	0.1	2.0
⑬ ホルモチオン	50. 5.10			0.1	0.1	0.1	
⑭ メソミル	50. 5.10	0.5			0.5	0.5	てんさい 0.5
⑮ BCPE	49. 9. 9			1.5	0.5		7.0
⑯ BPMC	51.12.10	0.3		0.3	0.3		0.3
⑰ BPPS	49. 9. 9			3.0			3.0
⑱ BRP	49. 9. 9	0.1		0.1	0.1		0.1
⑲ CPCBS	51.12.10			0.8	0.5	10	
⑳ CVP	49. 4.24	0.01		0.2	0.2	0.1	0.2
㉑ CVMP	50. 8. 4	0.3			0.3		
㉒ CYP	51. 3. 4	0.05		0.5	0.05	0.1	5.0
㉓ DDVP	49. 3.19	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
㉔ DEP	48.11.26	0.5		0.5	0.5	0.5	いちご 0.3
㉕ DMTP	50. 5.10			0.2	0.2		
㉖ PAP	49. 9. 9		0.4	0.1	0.1	0.05	0.1
㉗ PHC	49. 4.24	1.0					
㉘ PMP	49. 4.24	0.1		0.1			0.5
							なつみかん外皮 2.0

記載のクリンアップを省略することが可能な場合も少なくない。しかし細かく解説することも繁雑なので、本稿ではとりあえず告示の方法の内容を忠実に記載することにした。分析の実施にあたっては適宜改良を行なわれたい。

記載方法の解説

1) 記載の順序

告示の文章は試薬の純度や操作方法を具体的に詳細に記載しているが、繁雑であるため、本稿では分析の常識に属することは省略し、分析経験者であれば一応トレースが可能な程度に簡略化することにした。また、告示はその性質上試薬等の商品名を記載していないので、必要なものは著者の経験等をもとに商品名におきかえた。

配列の順序は農薬名の50音順とした。農薬名は農林省の種類名を用い、ISO等の一般名がこれと異なる場合は並記した。名称の次に告示の年月日（重要な改正のあったものはその日付を並記）を記した。また、化学名を告示の記載に従って付記した。なお、昭和50年以降の告示では文部省学術用語集（1974）記載の「日本語による化合物命名の原則」に従った表記がなされているが、49年以前の告示ではそうっていないので、命名の原則と異なる字に・・を付し、望ましい表現を（ ）内に示した。たとえばジクロロ（ロ）フェニルとあるのは、告示ではジクロロフェニルであるが、命名原則に従えばジクロロフェニルであることを示す。

残留農薬の分析は一般に「試料の前処理」、「試料からの抽出」、「液相間の分配によるクリンアップ」、「カラムクロマトグラフィー等によるクリンアップ」、「ガスクロマトグラフィー等による定量」の順序で行なわれる。以下この順序で若干一般的な解説および記載方法の簡略化について解説する。

2) 前 処 理

検査を行なう農作物の部位および前処理については昭和48年7月24日に一括して告示されている。その本文は農薬科学に発表されており⁵⁾、その内容は食品衛生法に基づく告示とほぼ同じであるので本稿では省略する。要は農作物の可食部をとり、残留農薬の損失をできるだけ防ぐように処理することである。

3) 試料からの抽出

本稿には一回の分析に使用する試料の量および抽出溶媒の種類と量を記載した。告示では、抽出操作は一般には次のように行なうこととされている。試料と溶媒を分液漏斗に入れ、野菜、果実は5分間、米、麦、豆類は1時間はげしく振盪したのちケイソウ土（ハイフロースーパ

ーセルまたはセライト 545）を敷いた濾紙で吸引濾過する操作を1～2回行なう。本稿中たとえば「試料 50g、アセトン 100 ml×2 で抽出」と記したのは、試料 50g をとり、アセトン 100 ml ずつを用いて2回上記の操作を行なうことである。抽出または洗浄の溶媒の種類や組成が1回目と2回目で異なるときには「および」でむすんだ。混合溶媒はまぜあわす溶媒を - でむすび、混合比（容積比）を（ ）内に記した。

ここで分液漏斗を用いることとしているのは、分液漏斗振盪機を用いてはげしく振盪するため、実際は共栓三角フラスコを用いたほうが便利である。著者らは通常次のようにしている。三角フラスコを用いて野菜、果実は20分間はげしく振盪、米等は1時間振盪したのち一夜放置する。桐山漏斗で吸引濾過し、所定量の溶媒で漏斗上の残渣を洗い洗液と濾液を合する。

4) 液相間の分配

抽出液をそのまま、または有機溶媒を留去したのち、食塩水等で希釈し別の有機溶媒で抽出する。抽出方法は分液漏斗中で5分間振盪したのち静置し分液する。本稿では、あとから加えた溶媒によって農薬を抽出する場合は「抽出」、あとから加えた溶媒で混在物を抽出除去する場合は「洗浄」と記載した。たとえば「*n*-ヘキサン 100 ml+80 ml で抽出」と記したのは、*n*-ヘキサンで、第1回は100 ml、2回目は80 ml を用いそれぞれ5分間振盪抽出し、*n*-ヘキサン層を分液してとり、ヘキサン層を合することである。

本稿では簡略化のため、単に「留去」または「濃縮」と記したが、溶媒を留去するときは必ずすりあわせ蒸留装置を用い浴温 40°C 以下で減圧留去する。ロータリエバポレータの使用が便利でケルナダニッシュ濃縮器は必ずしも必要ではない。ただし、溶媒を完全に留去する場合は蒸発による農薬の損失をさけるため、最後の約1 ml は室温で空気または窒素ガスを吹きつけて蒸発させる。

有機溶媒の脱水については、告示では無水硫酸ナトリウムの量、放置時間、硫酸ナトリウムの濾別と洗浄の操作が詳細に記載されているが常識に属するので省略し、単に「脱水」と記載した。

5) カラムクロマトグラフィー等

カラムクロマトグラフィー（「CC」と略記）については〔 〕内に、クロマト管の内径、固定相の種類と量、展開溶媒の種類と量の順で記載した。展開溶媒のうちくゝ内に記したのは最初に流下させて排棄するフラクションである。たとえば、「〈ベンゼン 50 ml〉、ベンゼン-ヘキサン（1:1）100 ml」と記したのは、最初ベンゼン 50 ml を流下させてこれをすて、ついでベンゼンとヘ

キサンの 1:1 (容量比) 混液 100 ml を流下させてこのフラクションをとることである。

固定相で告示中に「ケイ酸マグネシウム」と記載されているのはフロリジルのことで、通常 60~100 メッシュのものを 130°C で一夜加熱し、デシケータ中で放冷して使用する。ケイ酸 (シリカゲル) はメルク社製のキーゼルゲル 60 (Art. 7734) またはワコーゲル C-200 が、アルミナはメルク社製中性のものが一般的である。ただし、ワコーゲルは液を流しやすくするため、セライト 545 等と混合して使用する。記載量の固定相を最初に流下させる展開溶媒と同じ組成の展開溶媒を用いた湿式法で充てんし、その上部に無水硫酸ナトリウム 5~10 g を重ねる。試料は最初の展開溶媒と同じ組成の溶媒 5 ml ずつで数回クロマト管に洗い移す。

薄層クロマトグラフィー (「TLC」と略記) については〔 〕内に展開溶媒の組成のみを記した。薄層プレートはケイ光剤入りシリカゲル (たとえばメルク HF₂₅₄) の厚さ 0.5 mm、大きさ 20×20 cm のものを用いる。約 1 ml に濃縮した試料を下端から約 3 cm のところに両端約 3 cm ずつをあけて線状に添付する。両端の部分には標準品をスポットする。上昇法で 10~15 cm 展開したのち風乾し、紫外線を照射して標準品のスポットを確認し、それにはさまれた部分のシリカゲルをかきとってアセトンで振盪抽出する。

CC での農薬の流出位置や TLC の *R_f* は固定相の品質や混在物の有無によりかなり大きく変化する。とくに純品だけを展開した場合と天然物が混在した場合とは大きく異なることが多いので注意を要する。残留分析において回収率が低下する原因の多くは、CC における流出位置のずれにあるとみてよい。したがって告示の記載は一応の目安とみて、回収試験の際前後のフラクションもとってにおいてチェックするとよい。

6) ガスクロマトグラフィー等

ガスクロマトグラフィー (「GC」と略記) については、〔 〕内に、検出器の種類、固定相液体の種類と濃度、カラム温度、保持時間、1 cm のピーク高に相当する農薬の量、GC に供する試料溶液の量の順に記載した。

GC への注入量は告示では一応 4 μ l に統一されているが、これにこだわる必要はなからう。分離管は内径 2~3 mm、長さ 1~2 m のガラス製のものを用いる。固定相担体は Gaschrom Q, Chromosorb W, HP 等の 60~80 メッシュが一般的である。リン剤の定量には FPD と FTD のいずれを用いてもよい。FPD は感度は FTD におとるが、安定で妨害も少ない。ただし、ねぎやだいこん等イオウ化合物の多い試料では FTD のほうが妨害

が少ない。FPD はとくに記載のない場合は P 用のフィルターを用いる。S フィルター使用の場合は FPD (S) と記した。定量方法はピーク高による絶対検量線法である。FPD で S フィルターを用いる場合は、ピーク高の平方根をとるか両対数方眼紙を用いると検量線が直線になる場合が多い。

各部の温度やガス流量等についても告示に記載されているが、これらの操作条件は機種により最適条件が異なるから、一応の目安とみるほうがよからう。実際、GC の保持時間、感度、分離状況などはかなり再現性の乏しいものであり、文献の記載通り行なってもうまくいかない場合が少なくない。文献を参考にして各自が最良の条件をみつけだすことが必要であろう。なお、GC による各種農薬の分離については AOAC 誌に龐大なデータが発表されている⁶⁾。

7) そ の 他

操作中に誘導体の生成を行なっている場合はその旨を欄外に注記した。

野菜、果実と米等ではクリンアップ法が異なる場合が多いので別に記載した。茶については繁雑になるので本稿では一々記載しなかったが、次の方法によって分析する。「まっ茶」は試料 25 g を用い野菜等と同様に操作する。「まっ茶以外の茶」は、試料 9 g に 100°C の水 540 ml を加えて室温で 5 分間放置したのち濾過し、濾液の 360 ml をとり、「液相間の分配」以下の操作を行なう。

なお、告示の分析法は残留基準の設定された作物だけを分析することとして作成されており、残留基準が空欄になっている作物は考慮されていない。ただし、似たような作物や土壌の分析にも、告示の方法が応用可能な場合も多い。

以上の解説と以下の本稿によって一応の分析の実施が可能であると思う。なお不明の点は告示年月日の官報を参照されたい。また、残留分析全般に関する解説は別の成書^{7~9)}を参考にされたい。

分 析 法

① イソキサチオン (51.12.10)

O, O-ジエチル O-(5-フェニル-3-イソオキサゾリル) ホスホロチオアート

試料 50 g, アセトン 300 ml + 100 ml × 2 で抽出

↓
アセトン留去, 10% Na₂SO₄ 液 100 ml 加え n-ヘキサン 50 ml × 3 で抽出

↓
ヘキサン層を脱水, 50 ml に濃縮, アセトニトリル 30 ml × 2 で抽出, アセトニトリルを留去

↓
CC [1.5 cm, フロリジル 10 g, *n*-ヘキサン-エーテル (17:3) 150 ml]

↓
GC [FPD または FTD, 4% XE-60, 225°C, 2 分, 1 ng, 4 ml]

② エチオン (51.6.11)

メチレン ビス (*O, O*-ジエチル ホスホロジチオア-ート)

試料 100 g, メタノール 150 ml×2 で抽出

↓
水 400 ml, NaCl 10 g 加えジクロロメタン 100 ml +50 ml で抽出, ジクロロメタンを留去

↓
TLC [*n*-ヘキサン-アセトン (9:1), *R_f* 0.5]

↓
GC [FPD または FTD, 5% DC-200, 200°C, 5 分, 0.3 ng, 2 ml]

③ エチルチオメトン (ジスルホトン) (49.9.26)

O, O-ジエチル *S*-2-(エチルチオ) エチル ホスホロジチオエ(ア)ート

試料 50 g, アセトン 100 ml +50 ml×2 で抽出

↓
飽和 NaCl 液 100 ml 加えジクロロメタン 50 ml×3 で抽出, ジクロロメタン層を脱水, 2 ml に濃縮, *n*-ヘキサン 50 ml 加えアセトニトリル 25 ml×3 で抽出

↓
アセトニトリル層を 1 ml に濃縮, 20% MgSO₄ 液 5 ml, 1.6% KMnO₄ 液 20 ml 加え室温で 30 分間放置*

↓
クロロホルム 20 ml×3 で抽出, 脱水, 溶媒を留去

↓
GC [FTD または FPD, 10% DC-200, 210°C, 4 分 (ジメトンチオルスルホン), 0.5 ng, 5 ml]

* ジスルホトンおよびその酸化物 (チオルスルホキシド) を酸化してチオルスルホンにする。

④ クロルピリホス (50.8.4)

O, O-ジエチル *O*-3, 5, 6-トリクロロ-2-ピリジル チオホスファート

試料 100 g, メタノール 150 ml +50 ml×2 で抽出

↓
飽和 NaCl 液 50 ml, 水 500 ml 加え *n*-ヘキサン 150 ml×2 で抽出, ヘキサン層を脱水, 溶媒を留去

↓
CC [1.5 cm, フロリジル 5 g, ベンゼン 30 ml]

↓
GC [FPD または FTD, 5% OV-1, 170°C, 3 分,

0.5 ng, 5 ml]

⑤ クロルフェナミジン (クロルジメホルム) (49.9.9)

N'-(4-クロル(ロ)-*o*-トリル)-*N, N*-ジメチルホルムアミジン

試料 100 g (米は 50 g), 0.01 N 塩酸 10 ml 加えメタノール 250 ml +100 ml で抽出

↓
メタノールを 70 ml に濃縮, 6 N 塩酸 10 ml 加えジクロロメタン 100 ml×2 で洗浄

↓
水層に 8 N NaOH 10 ml 加え *n*-ヘキサン 100 ml×2 で抽出, ヘキサン層を合し 1 N 塩酸 20 ml で抽出, 塩酸層を 2 分し, 一方を検液 I とする。

検液 I をとった残りの液に 10 N NaOH 2 ml を加え 80°C で 20 分間加熱*

n-ヘキサン 30 ml×2 で抽出, ヘキサン層を合し 1 N 塩酸 10 ml で抽出, 塩酸層を検液 II とする。

検液 I の 1 ml にヨウ素化液 (飽和臭素水 20 ml に氷酢酸を加えて 100 ml とし, ヨウ素を飽和させる) 0.2 ml 加え 80°C で 10 分間加熱, 5 N KOH 4 ml, *n*-ヘキサン 5 ml 加え水冷しながらふりまぜ, ヘキサン層を分取**

↓
検液 II についても同様に操作

↓
GC [ECD, 5% XE-60, 180°C, 3 分 (4-クロロ-*o*-トリルイジンのヨウ素化物), 0.05 ng, 5 ml]

↓
計算 [(検液 II 中のクロロトルイジン-検液 I 中のクロロトルイジン)×1.39=クロルフェナミジン]

* クロルフェナミジンを加水分解し, クロロトルイジンとする。

** クロロトルイジンをヨウ素化する。

⑥ クロルプロピレート (49.4.24)

イソプロピル 4, 4'-ジクロル(ロ)-ベンジレ(ラ)ート

試料 100 g, アセトニトリル 200 ml +100 ml で抽出

↓
5% NaCl 液 200 ml 加え *n*-ヘキサン 100 ml×3 で抽出, ヘキサン層を脱水, 溶媒を留去

↓
CC [1.5 cm, フロリジル 5 g, 石油エーテル-クロロホルム-アセトン (7:2:1) 200 ml]

↓
溶出液を 1 ml に濃縮, ピリジン 0.1 ml, 無水ヘプタフルオル酪酸 0.2 g 加え密栓して室温で 5 分放置*

↓
水 60 ml 加え *n*-ヘキサン 100 ml +30 ml で抽出, ヘキサン層を脱水, 溶媒を留去

↓

GC [ECD, 5% XE-60, 180°C, 6.5分, 0.3 ng, 1 ml]

* クロルプロピレートの水酸基をヘプタフルオロブチリル化する。

⑦ ジアリホール (52.5.20)

O, O-ジエチル *S*-(2-クロロ-1-フタルイミドエチル) ホスホロジチオアート

試料 50 g, アセトン 150 ml + 100 ml × 2 で抽出

↓
アセトン留去, 飽和 NaCl 液 100 ml 加え *n*-ヘキサン 100 ml × 2 で抽出, ヘキサン層を脱水 (なつみかん外皮の場合はヘキサン層よりアセトニトリル 30 ml × 2 で抽出)

↓
CC [1.5 cm, 活性アルミナ 10 g, *n*-ヘキサン-アセトン (4:1) 100 ml]

↓
GC [FPD または FTD, 5% QF-1, 230°C, 2分, 0.4 ng, 4 ml]

⑧ ジメトエート (48.7.24)

ジメチル *S*-(*N*-メチルカルバモイルメチル) ジチオホスフェ(ア)ート

試料 100 g, アセトニトリル 200 ml および水 50 ml, メタノール 25 ml, アセトニトリル 100 ml の混液で抽出

↓
NaCl 60 g 加えクロロホルム 300 ml + 200 ml で抽出, クロロホルム層を脱水, クロロホルムを留去

↓
(米, 豆類の場合のみ, *n*-ヘキサン 40 ml に溶かしアセトニトリル 40 ml + 20 ml で抽出, アセトニトリル留去)

↓
TLC [*n*-ヘキサン-アセトン-クロロホルム (40:25:3)]

↓
GC [FPD または FTD, 2% DEGS, 180°C, 6分, 2 ng, 1 ml]

⑨ テトラジホン (49.9.9)

2, 4, 5, 4'-テトラクロル(ロ)ジフェニル スルホン

試料 50 g, アセトン 100 ml + 50 ml で抽出

↓
5% NaCl 液 400 ml 加えベンゼン 100 ml × 2 で抽出, ベンゼン層を脱水, 溶媒を留去

↓
CC [1.5 cm, フロリジル 5 g, <*n*-ヘキサン-エーテル (19:1) 40 ml>, *n*-ヘキサン-エーテル (17:3) 40 ml]

↓

GC [ECD, 5% OV-17, 225°C, 25分, 0.5 ng, 1 ml]

⑩ ベンゾエピン (エンドスルファン) (49.9.9)

ヘキサクロル(ロ)ヘキサヒドロメタノベンゾジオキサチエピン オキシド (α 体および β 体)

試料 50 g, アセトン 100 ml およびアセトン 100 ml と水 50 ml の混液で抽出

↓
2% NaCl 液 300 ml 加え *n*-ヘキサン 50 ml × 2 で抽出, ヘキサン層を合し水 100 ml で洗浄, ヘキサン層を脱水, 溶媒を留去

↓
CC [1.5 cm, フロリジル 5 g, *n*-ヘキサン-エーテル (7:3) 150 ml]

↓
GC [ECD, 2% DC-11, 5% DC-11, 215~230°C, 5分 (α 体), 0.05 ng, 5 ml, エンドスルファンスルフェートも同時に定量]

⑪ ベンゾメート (51.6.11)

安息香酸 3-クロロ-*N*-エトキシ-2, 6-ジメトキシベンゾイミド酸無水物

試料 50 g, アセトニトリル 80 ml + 20 ml で抽出

↓
水 50 ml 加えクロロホルム 100 ml × 2 で抽出, クロロホルム層を脱水, 溶媒を留去, アセトニトリル 100 ml に溶かし石油エーテル 100 ml で洗浄

↓
アセトニトリル層に 3% Na₂SO₄ 液 200 ml 加え *n*-ヘキサン 100 ml × 3 で抽出, ヘキサン層を脱水, 2 ml に濃縮

↓
CC [1.5 cm, シリカゲル 5 g, <*n*-ヘキサン 100 ml>, *n*-ヘキサン-エーテル (97:3) 300 ml]

↓
溶媒を留去, 0.1 N NaOH 50 ml 加え 15 分間ゆるやかに環流煮沸, 冷後 1 N 塩酸で pH 7 とし, *n*-ヘキサン 100 ml とエーテル 50 ml の混液およびエーテル 50 ml で抽出, *n*-ヘキサン-エーテル層を脱水, 溶媒を留去

↓
CC [1.5 cm, セライト 545-活性炭 (2:1) 0.5 g, アセトン 200 ml]

↓
「溶媒を留去, 臭化水素酸 1 ml 加え 80°C で 1 時間加熱, 冷後水 5 ml 加えエーテル 5 ml × 2 で抽出, エーテルを留去, アセトン 1 ml, 緩衝液 (0.1 M パルピツル酸ナトリウム溶液を 0.1 N 塩酸で pH 8 に調整) 4 ml, 発色試液 (0.04% 4-ニトロベンゼンジアゾニウムテトラフルオロボレート溶液) 1 ml 加え 25~30°C で 1 時間放置, 1 N 塩酸 1 ml 加えクロロホルム 5 ml × 3 で抽出, クロロホルムを留去, アセトン 2 ml に溶かす*。」

↓
CC [1.5 cm, 6% アンモニア水を 9% 含ませた活性アルミナ 2g, 〈アセトン 10 ml〉, 〈アセトン-水 (19:1) 10 ml〉, アセトン-水 (3:17) 5 ml]

↓
溶出液をアセトン-水 (3:17) で 10 ml とし, 570 nm の吸光度を測定

* ベンゾメートを分解して 3-クロロ-2-ヒドロキシ-6-メトキシベンゾヒドロキサム酸エチルとし, これをジアゾニウム塩とカップリングさせて発色させる.

検量線はベンゾメートの 5~50 ppm アセトン溶液 1 ml について「」内の操作を行なって作成.

⑫ ホサロシ (51.3.4)

O, O-ジエチル 3-(6-クロロ-2-オキシベンゾオキサゾリニル) メチル ホスホロジチオアート

試料 50 g, アセトン 150 ml×2 で抽出

↓
リン酸緩衝液 (KH_2PO_4 3.4 g, Na_2HPO_4 3.55 g を 1 l) 50 ml 加えアセトンを留去, ジクロロメタン 50 ml×2 で抽出, ジクロロメタン層を脱水, 溶媒を留去

↓
CC [1.5 cm, フロリジル 8 g, ベンゼン 200 ml]

↓
GC [FPD または FTD, 1% OV-17, 230°C, 4 分, 1 ng, 5 ml]

⑬ ホルモチオン (50.5.10)

O, O-ジメチル *S*-(*N*-ホルミル-*N*-メチルカルバモイルメチル) ジチオホスファート

試料 100 g, アセトン 100 ml×2 で抽出

↓
100 ml に濃縮, 飽和 NaCl 液 100 ml 加えクロロホルム 100 ml+80 ml で抽出, クロロホルム層を脱水, 溶媒を留去

↓
GC [FPD または FTD, 10% DC-200, 205°C, 6 分, 1 ng, 5 ml]

⑭ メソミル (50.5.10)

S-メチル *N*-(メチルカルバモイルオキシ) チオアセトイミダート

試料 100 g, 酢酸エチル 100 ml×2 で抽出

↓
水 50 ml を加え酢酸エチルを留去, 水 50 ml, 1 N 硫酸 5 ml 加え *n*-ヘキサン 50 ml×2 で洗浄, クロロホルム 50 ml×2 で抽出, クロロホルム層を 20 ml に濃縮

↓
0.1 N NaOH 50 ml 加えクロロホルムを留去, 85°C

で 30 分間加温, 冷後 1 N 硫酸 5 ml 加え酢酸エチル 30 ml×2 で抽出, 酢酸エチル層を脱水, 溶媒を留去*

↓
GC [FPD (S), 10% FFAP, 160°C, 2 分 (メチルチオアセトヒドロキシマート), 1 ng, 2 ml]

* メソミルを加水分解してメチルチオアセトヒドロキシマートとする. メチルチオアセトヒドロキシマート×1.54=メソミル

⑮ BCPE (49.9.9)

1, 1-ビス (4-クロル (ロ) フェニル) エタノール

試料 100 g, アセトン 200 ml+100 ml×2 で抽出

↓
アセトンを留去, 水 50 ml, 飽和 NaCl 液 20 ml 加え *n*-ヘキサン 30 ml×3 で抽出, ヘキサン層を脱水, 溶媒を留去

↓
CC [2 cm, フロリジル 15 g, ベンゼン 250 ml]

↓
流出液の溶媒を留去

↓
CC [2 cm, フロリジル 15 g, 〈*n*-ヘキサン 100 ml〉, ベンゼン 250 ml]

↓
溶媒を留去, 氷酢酸 10 ml, 水 5 ml, 無水クロム酸 3.5 g 加え 70~80°C で 1 時間加熱*

↓
冷後 *n*-ヘキサン 20 ml×3 で抽出, ヘキサン層を 0.5 N NaOH 20 ml および水 50 ml×2 で洗浄

↓
n-ヘキサン層を脱水, 溶媒を留去

↓
GC [ECD, 2% OV-17, 190°C, 3 分 (ジクロロベンゾフェノン), 0.08 ng, 50 ml]

* BCPE を酸化してジクロロベンゾフェノンとする.

⑯ BPMC (51.12.10)

2-*sec*-ブチルフェニル *N*-メチルカルバマート

試料 25 g, Na_2SO_4 100 g 加えジクロロメタン 150 ml+100 ml で抽出

↓
0.25 N NaOH 25 ml, 飽和 NaCl 液 10 ml 加えてふりまぜジクロロメタン層を分取, 水層をジクロロメタン 20 ml で抽出, ジクロロメタン層を合し水 50 ml で洗浄, ジクロロメタン層を脱水, 溶媒を留去

↓
CC [1.5 cm, フロリジル 20 g, 〈*n*-ヘキサン-ジクロロメタン (3:2) 100 ml〉, *n*-ヘキサン-ジクロロメタン (1:1) 200 ml]

↓
溶媒留去, 0.5 N NaOH 25 ml 加え沸とう水中で

30 分間加熱，冷後飽和 NaCl 液 5 ml 加え石油エーテル 50 ml で洗淨，石油エーテル層を飽和 NaCl 液 5 ml×2 で抽出，全水層を合する*。

↓

1% 無水モノクロロ酢酸-ベンゼン溶液 10 ml 加え 5 分間ふりまぜてベンゼン層を分取，ベンゼン層を水 10 ml で洗淨し，脱水濾紙 (Whatman 1 PS) で濾過**

↓

GC [ECD, 10% DC-200, 185°C, 4 分 (2-ブチルフェニルクロロ酢酸), 0.2 ng, 10 ml]

* BPMC を加水分解し 2-ブチルフェノールとする。

** 2-ブチルフェノールをモノクロロアセチル化する。

⑩ BPPS (49.9.9)

2-(4-ターシャリ(*tert*)-ブチルフェノキシ) シクロヘキシルプロピニル スルフィト

試料 100 g, ベンゼン 200 ml+150 ml で抽出

↓

ベンゼン層を分取，脱水，溶媒を留去

↓

CC [2 cm, フロリジル 15 g, <ベンゼン 100 ml>, ベンゼン-エーテル (4:1) 100 ml]

↓

GC [FPD (S), 3% OV-1, 220°C, 6 分, 10 ng, 10 ml]

⑪ BRP (ナレド) (49.9.9)

ジメチル ジブロムジクロル(ロ)エチル ホスフェ(ア)ート

A (米)

試料 50 g, 塩酸 4 ml 加え *n*-ヘキサン 200 ml×2 で抽出

↓

5% NaCl 液 300 ml で洗淨，ヘキサン層を脱水，溶媒を留去

↓

CC [2 cm, ケイ酸 20 g, <*n*-ヘキサン-エーテル (3:2) 100 ml>, エーテル-*n*-ヘキサン (3:1) 200 ml]

↓

溶出液を 5 ml に濃縮，リン酸緩衝液 (0.1 M NaH₂PO₄ 460 ml+0.1 M Na₂HPO₄ 1 l, pH 7.2) 30 ml, システイン溶液 (L-システイン塩酸塩 2 g を水 50 ml に溶かし 2 N NaOH で pH 7.2 に調節) 4 ml 加え *n*-ヘキサン 25 ml×2 で抽出*，ヘキサン層を脱水，溶媒を留去

↓

GC [FTD または FPD, 10% FFAP, 140°C, 5 分 (DDVP), 0.2 ng, 5 ml]

B (果実，野菜)

試料 100 g, 塩酸 4 ml 加え *n*-ヘキサン 200 ml お

よび *n*-ヘキサン 100 ml と水 50 ml の混液で抽出，ヘキサン層を分取，水層を *n*-ヘキサン 100 ml で抽出

↓

ヘキサン層を合し 5% NaCl 液 300 ml で洗淨，ヘキサン層を脱水，溶媒を留去

↓

CC, GC [A に同じ]

* BRP をシステインと反応させ DDVP とする。

⑫ CPCBS (クロルフェンソン) (51.12.10)

4-クロロフェニル 4-クロロベンゼルスルホナート

試料 25 g, アセトン 150 ml+100 ml+20 ml で抽出

↓

4% NaCl 液 250 ml 加え *n*-ヘキサン 50 ml×3 で抽出，ヘキサン層を脱水，溶媒を留去

↓

CC [1.5 cm, フロリジル 5 g, <*n*-ヘキサン 150 ml>, ベンゼン 250 ml]

↓

GC [ECD, 2% DC-11, 190°C, 5 分, 0.04 ng, 50 ml]

⑬ CVP (クロルフェンビンホス) (49.4.24)

2-クロル(ロ)-1-(2, 4-ジクロル(ロ)フェニル) ビニル ジエチル ホスフェ(ア)ート, Z 体および E 体

試料 100 g, アセトン 300 ml+100 ml で抽出

↓

アセトンを留去，水 300 ml, 飽和 NaCl 液 50 ml 加え *n*-ヘキサン 150 ml+100 ml で抽出，ヘキサン層を脱水，溶媒を留去

↓

CC [1.5 cm, 微結晶セルロース (アビスル)-活性炭 (ダルコ G60) (9:1) 5 g, アセトン 100 ml]

↓

GC [FPD または FTD, 3% PEG 20 M, 200°C, 5 分 (E 体), 0.5 ng, 1 ml]

⑭ CVMP (テトラクロルビンホス) (50.8.4)

O, O-ジメチル 2-クロロ-1-(2, 4, 5-トリクロロフェニル) ビニル ホスファート

A (米)

試料 50 g, アセトニトリル-メタノール (4:1) 100 ml+50 ml で抽出

↓

アセトニトリル-メタノールを留去，*n*-ヘキサン 50 ml に溶かしアセトニトリル 70 ml×2 で抽出，アセトニトリル層を 5 ml に濃縮，10% NaCl 液 100 ml 加え *n*-ヘキサン 100 ml×2 で抽出，ヘキサン層を脱水，溶媒を留去

↓

GC [FPD または FTD, 2% DEGS, 215°C, 5 分 (E 体), 2 ng, 5 ml]

B (野菜)

試料 100 g, アセトン 200 ml+50 ml×2 で抽出

↓
アセトンを留去, NaCl 20 g 加え *n*-ヘキサン 100 ml+70 ml で抽出, ヘキサン層を脱水, 溶媒を留去

↓
GC [A に同じ]

②② CYP (51.3.4)

O-エチル *O*-(4-シアノフェニル) フェニルホスホノチオアート

A (米, 豆類)

試料 50 g, アセトン 40 ml とベンゼン 200 ml の混液およびベンゼン 100 ml×2 で抽出

↓
溶媒を留去, *n*-ヘキサン 50 ml に溶かしアセトニトリル 20 ml×2 で抽出, 溶媒を留去

↓
TLC [ベンゼン, *R_f* 0.4]

↓
GC [FTD, 5% DC-200+10% QF-1, 235°C, 6分, 0.5 ng, 5 ml]

B (果実, 野菜)

試料 50 g, アセトニトリル-メタノール (4:1) 150 ml+50 ml で抽出

↓
100 ml に濃縮, 4% NaCl 液 500 ml 加え *n*-ヘキサン 100 ml×2 で抽出, ヘキサン層を脱水, 溶媒を留去

↓
CC [1.5 cm, シリカゲル (ワコーゲル C200)-活性炭 (ダルコ G60) (5:1) 6 g, ベンゼン <20 ml>, 70 ml]

↓
GC [A に同じ]

②③ DDVP (ジクロロボス) (49.3.19)

ジメチル ジクロロ(ロ)ピニルホスフェ(ア)ート

A (米, 麦, 雑穀)

試料 50 g, 石油エーテル 200 ml×2 で抽出

↓
20 ml に濃縮, アセトニトリル 40 ml×2 で抽出, アセトニトリル層に 5% NaCl 液 500 ml 加え石油エーテル 100 ml×2 で抽出, 石油エーテル層を脱水, 溶媒を留去

↓
CC [1.5 cm, シリカゲル (ワコーゲル C200) とセライト 545 の混合物 (1:1) 5 g, <*n*-ヘキサン-エーテル (4:1) 60 ml>, エーテル 100 ml]

↓
GC [FPD または FTD, 5% OV-225, 160°C, 3分, 0.05 ng, 10 ml]

B (果実, 野菜, いも類)

試料 100 g, 石油エーテル 200 ml および石油エーテル 200 ml と水 100 ml の混液で抽出, 石油エーテル層を分取, 水層を石油エーテル 100 ml で抽出, 全石油エーテル層を合する.

↓
石油エーテル層を脱水, 溶媒を留去

↓
CC, GC [A に同じ, ただし最終液量 5 ml]

②④ DEP (トリクロロホン) (48.11.26)

ジメチル 2, 2, 2-トリクロロ(ロ)-1-ヒドロキシエチルホスホネ(ナ)ート

試料 100 g, アセトニトリル 200 ml+50 ml で抽出

↓
アセトニトリルを留去, 水を加えて 100 ml とし, *n*-ヘプタン 25 ml×3 で洗浄

↓
水層に NaCl 30 g を加えエーテル 100 ml×3 で抽出, エーテル層を脱水, エーテルを留去

↓
GC [FPD または FTD, 25% PEG 20 M, 185°C, 3分*, 4 ng, 1 ml]

* DEP が GC 中で熱分解して生ずるトリメチルホスフェートのピークを測定する. 熱分解を促進するため, 試料気化室にガラス綿をつめておくとうい.

②⑤ DMTP (メチダチオン) (50.5.10)

O, O-ジメチル *S*-(5-メトキシ-2-オキソ-1, 3, 4-チアゾリン-3-イルメチル) ジチオホスファート

試料 50 g, Na₂SO₄ 80 g 加え酢酸エチル 200 ml+100 ml で抽出, 酢酸エチル層を分取, 水層を酢酸エチル 100 ml で抽出, 全酢酸エチル層を合する.

↓
酢酸エチル層を脱水, 溶媒を留去

↓
CC [2 cm, シリカゲル 20 g, <ベンゼン 150 ml>, ベンゼン-エーテル (9:1) 150 ml]

↓
GC [FPD または FTD, 5% QF-1, 210°C, 4分, 0.4 ng, 3 ml]

②⑥ PAP (フェントエート) (49.9.9)

O, O-ジメチル ジチオホスホリル [2-(ジメトキシホスフィノチオイロチオ)-2-] フェニル酢酸エチル

A (果実, 野菜, いも類)

試料 50 g, メタノール 100 ml およびメタノール-水 (4:1) 混液 150 ml+40 ml で抽出

↓
水 250 ml, 飽和 NaCl 液 40 ml 加えクロロホルム 100 ml×2 で抽出, クロロホルム層を脱水, 溶媒を留去

↓

CC [1.5 cm, 8% 含水アルミナ 10 g, ベンゼン-*n*-ヘキサン (1:1) 50 ml]

↓
GC [FTD または FPD, 15% SE-30, 205°C, 5 分, 1 ng, 1 ml]

B (麦, 雑穀, 豆類)

試料 25 g, アセトン 100 ml+50 ml×2 で抽出

↓
アセトンを留去, *n*-ヘキサン 40 ml に溶かしてアセトニトリル 40 ml×3 で抽出, アセトニトリル留去

↓
CC, GC [A に同じ]

②⑦ PHC (アブプロカブ) (49.4.24)

2-イソプロポキシフェニル *N*-メチルカーバメ(マ)ート

試料 50 g, アセトン 100 ml, 水 75 ml およびジクロロメタン 100 ml で抽出, ジクロロメタン層を分取, アセトン層をジクロロメタン 50 ml で抽出, ジクロロメタン層を合し脱水

↓
ジクロロメタン層を 5 ml に濃縮, *n*-ヘキサン 50 ml を加えアセトニトリル 25 ml×3 で抽出

↓
TLC [*n*-ヘキサン-酢酸エチル-ギ酸 (60:40:1) で展開, クロロホルム-メタノール (9:1) で抽出]

↓
リン酸緩衝液 (0.05 M Na_2HPO_4 100 ml+0.1 M NaOH 8.2 ml+水 200 ml, pH 11) 10 ml+2, 4-ジニトロフルオロベンゼン (1%, アセトン溶液) 0.5 ml 加え 50°C で 30 分加熱*

↓
n-ヘキサン 10 ml+5 ml で抽出, ヘキサン層を脱水

↓
CC [1.5 cm, フロリジル 5 g, *n*-ヘキサン-エーテル (17:3), <15 ml>, 85 ml]

↓
GC [ECD, 10% DC-200, 215°C, 4 分, 0.05 ng, 10 ml]

* アブプロカブを加水分解し, 生ずるイソプロポキシフェノールをジニトロフルオルベンゼンと反応させて 2, 4-ジニトロフェニル-2'-イソプロポキシフェニルエーテルとする。

②⑧ PMP (49.4.24, 49.12.23 改)

O, O-ジメチル *S*-フタルイミドメチル ジチオホスフェ(マ)ート

A (果実)

試料 100 g, ベンゼン 200 ml+100 ml で抽出, ベ

ンゼン層を分取, 水層をベンゼン 100 ml で抽出, 全ベンゼン層を合す

↓
ベンゼン層を飽和 NaCl 30 ml で洗浄, ベンゼン層を脱水, 溶媒を留去

↓
CC [1.5 cm, フロリジル 10 g, *n*-ヘキサン-アセトン (9:1) 100 ml]

↓
GC [FTD または FPD, 5% DC-200, 240°C, 5 分, 1 ng, 1 ml]

B (米)

試料 50 g, クロロホルム-メタノール (4:1) 混液 200 ml+100 ml で抽出

↓
溶媒を留去, *n*-ヘキサン 50 ml に溶かしアセトニトリル 50 ml×2 で抽出, アセトニトリルを留去

↓
CC [1.5 cm, フロリジル 5 g, <*n*-ヘキサン-アセトン (1:1) 40 ml>, *n*-ヘキサン-ジクロロメタン 50 ml]

↓
流出液の溶媒を留去

↓
CC [1.5 cm, ケイ酸 (ワコーゲル C200)-ケイ藻土 (セライト 545) (4:1) 5 g+メタノール-水 (9:1, *n*-ヘキサン 飽和) 5 ml, <*n*-ヘキサン 30 ml>, *n*-ヘキサン-ベンゼン (19:1) 50 ml]

↓
GC [A に同じ]

引用文献

- 1) G. Zweig: "Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators and Food Additives," Academic Press, New York, Vol. 1-8, 1963-1976
- 2) 武田明治: 農薬科学 **2** (3), 128 (1974); **2** (4), 193 (1975); **3** (1), 46 (1975); **3** (3), 157 (1976)
- 3) 武田明治: 食品衛生研究 **24** (8), 27 (1975)
- 4) 農薬科学 **1** (4), 163 (1974); **2** (1), 22 (1974); **2** (3), 126 (1974); **2** (4), 192 (1975); **3** (3), 152 (1976)
- 5) 農薬誌 **2** (1), 103 (1977); **2** (3), 385 (1977)
- 6) 農薬科学 **1** (4), 163 (1974)
- 7) J. F. Thompson *et al.*: *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* **58**, 1037 (1975)
- 8) 田辺弘也: 残留農薬の分析, 講談社, 1971
- 9) 環境庁土壌農薬課編: 農薬汚染, 白亜書房, p. 170, 1974
- 10) 金沢 純, 他: 土壌肥科学雑誌 **44**, 301 (1973); **44**, 342 (1973); **44**, 385 (1973); **44**, 448 (1973); **44**, 491 (1973)