

改正後	改正前
<p>第1 食品</p> <p>A 食品一般の成分規格</p> <p>1～4 (略)</p> <p>5 (略)</p> <p>(1)・(2) (略)</p> <p><u>(3)</u> 2, 4, 5-T試験法</p> <p>1. 装置</p> <p>液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計を用いる。</p> <p>2. 試薬・試液</p> <p>次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。</p> <p>アセトニトリル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。</p> <p>アセトン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。</p> <p>エーテル ジエチルエーテル。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。</p> <p>オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000mg)</p> <p>内径12～13mmのポリエチレン製のカラム管に、オクタデシルシリル化シリカゲル1,000mgを充填したもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。</p> <p>グラファイトカーボン／エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (500mg/500mg)</p> <p>内径約12～13mmのポリエチレン製のカラム管に、上層にグラファイトカーボンを、下層にエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル各500mg充填したもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。</p>	<p>第1 食品</p> <p>A 食品一般の成分規格</p> <p>1～4 (略)</p> <p>5 (略)</p> <p>(1)・(2) (略)</p> <p><u>(3)</u> 2, 4, 5-T試験法</p> <p>1. 装置</p> <p>電子捕獲型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。</p> <p>2. 試薬・試液</p> <p>次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。</p> <p>なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。</p> <p>アセトニトリル アセトニトリル300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトニトリルを除去する。この残留物をn-ヘキサン5mlに溶かし、その5μlを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn-ヘキサン以外のピークの高さは、<math>2 \times 10^{-11}</math>gのγ-BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。</p> <p>アセトン アセトン300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトンを除去する。この残留物をn-ヘキサン5mlに溶かし、その5μlを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn-ヘキサン以外のピークの高さは、<math>2 \times 10^{-11}</math>gのγ-BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。</p>

酢酸エチル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

トルエン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

n-ヘキサン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

水 蒸留水、精製水、純水等の化学分析に適したものを用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

メタノール 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

### 3. 標準品

2, 4, 5-T 本品は2, 4, 5-T 98%以上を含む。

### 4. 試験溶液の調製

#### a 抽出法

##### ① 穀類、豆類及び種実類の場合

試料10.0 gに水20mlを加え、30分間放置する。これに4 mol/l 塩酸5 ml及びアセトン100mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50 mlを加えて細切均一化した後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mlとする。

この溶液から正確に10mlを採り、10w/v%塩化ナトリウム溶液100mlを加え、酢酸エチル及びn-ヘキサンの混液(1:1) 100ml及び50mlで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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した後、ろ液を40℃以下で

。エーテル エチルエーテル300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、エチルエーテルを除去する。この残留物をn-ヘキサン5 mlに溶かし、その5  $\mu$ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn-ヘキサン以外のピークの高さは、 $2 \times 10^{-11}$  gの $\gamma$ -BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

塩化ナトリウム 塩化ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム カラムクロマトグラフィー用に製造した合成ケイ酸マグネシウム(粒径150~250  $\mu$ m)を130℃で12時間以上加熱した後、デシケーター中で放冷する。

ケイソウ土 化学分析用ケイソウ土を用いる。

酢酸エチル 酢酸エチル300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、酢酸エチルを除去する。この残留物をn-ヘキサン5 mlに溶かし、その5  $\mu$ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn-ヘキサン以外のピークの高さは、 $2 \times 10^{-11}$  gの $\gamma$ -BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

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25mlに溶かす。

n-ヘキサン n-ヘキサン300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて5 mlに濃縮し、この5  $\mu$ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn-ヘキサン以外のピークの高さは、 $2 \times 10^{-11}$  gの $\gamma$ -BHCが示すピークの高さ以下でなければ

濃縮し、溶媒を除去する。

この残留物に n-ヘキサン30mlを加え、アセトニトリル及び水の混液（99：1）30mlずつで3回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

② 果実及び野菜の場合

試料20.0 gに4 mol/l 塩酸5 ml及びアセトン100mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mlとする。

この溶液から正確に5 mlを採り、10 w/v %塩化ナトリウム溶液100mlを加え、酢酸エチル及びn-ヘキサンの混液（1：1）100ml及び50mlで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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した後、ろ液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

③ 茶及びホップの場合

試料5.00 gに水20mlを加え、30分間放置する。これに4 mol/l 塩酸5 ml及びアセトン100mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50 mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mlとする。

この溶液から正確に10mlを採り、10 w/v %塩化ナトリウム溶液100mlを加え、酢酸エチル及びn-ヘキサンの混液（1：1）100ml及び50mlで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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した後、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

この残留物に n-ヘキサン30mlを加え、アセトニトリ

ルでない。

水 蒸留水を用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものをを用いる。

無水硫酸ナトリウム 無水硫酸ナトリウム（特級）。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものをを用いる。

メタノール メタノール300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、メタノールを除去する。この残留物を n-ヘキサン5 mlに溶かし、その5 μlを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上の n-ヘキサン以外のピークの高さは、 $2 \times 10^{-11}$  g の  $\gamma$ -BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

3. 標準品

2, 4, 5-T 本品は2, 4, 5-T 98%以上を含む。

融点 本品の融点は156℃である。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 穀類、豆類及び種実類の場合

検体を420 μm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20mlを加え、2時間放置する。

これにアセトン100ml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50ml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℃以下で約30mlに濃縮する。

これをあらかじめ10%塩化ナトリウム溶液100mlを入

ル及び水の混液（99：1）30mlずつで3回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

④ 筋肉、肝臓、腎臓、乳及び卵並びに魚介類の場合

試料10.0 gに4 mol/l 塩酸 5 ml及びアセトン100mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mlとする。

この溶液から正確に10mlを採り、10 w/v %塩化ナトリウム溶液100mlを加え、酢酸エチル及びn-ヘキサンの混液（1：1）100ml及び50mlで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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した後、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

この残留物にn-ヘキサン30mlを加え、アセトニトリル及び水の混液（99：1）30mlずつで3回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

⑤ 脂肪の場合

試料5.00 gに4 mol/l 塩酸 5 ml及びアセトン100mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mlとする。

この溶液から正確に20mlを採り、10 w/v %塩化ナトリウム溶液100mlを加え、酢酸エチル及びn-ヘキサンの混液（1：1）100ml及び50mlで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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した後、40℃以下で濃縮し

れた300mlの分液漏斗に移す。酢酸エチル100ml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300mlの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル50ml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20ml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℃以下で約1ml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30mlを加え、100mlの分液漏斗に移す。これにn-ヘキサン飽和アセトニトリル30ml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200mlの分液漏斗に移す。n-ヘキサン層にn-ヘキサン飽和アセトニトリル30mlを加え、上記と同様の操作を2回繰り返し、アセトニトリル層を上記の分液漏斗に合わせる。これにアセトニトリル飽和n-ヘキサン50mlを加え、軽く振り混ぜた後、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し、40℃以下で約1mlに濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。

② 果実、野菜、抹茶及びホップの場合

果実及び野菜の場合は、検体約1kgを精密に量り、必要に応じ適量の水を量つて加え、細切均一化した後、検体20.0gに相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、検体5.00gを量り採り、水20mlを加えて、2時間放置する。

、溶媒を除去する。

この残留物に n-ヘキサン30mlを加え、アセトニトリル及び水の混液 (99 : 1) 30mlずつで3回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

⑥ はちみつの場合

試料10.0 g に水20mlを加えて溶かす。これに 4 mol/l 塩酸 5 ml 及びアセトン100mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mlを加え、細切均一化した後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mlとする。

この溶液から正確に10mlを採り、10 w/v % 塩化ナトリウム溶液100mlを加え、酢酸エチル及び n-ヘキサンの混液 (1 : 1) 100ml及び50mlで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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した後、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

b 加水分解

a 抽出法で得られた残留物にメタノール 2 mlを加えて溶かし、1.5mol/l 水酸化ナトリウム溶液 1 mlを加える。これに還流冷却器を取り付けて、80℃の水浴中で30分間加熱した後、放冷する。これに1.5mol/l 塩酸を加えてpH7.5~8.0に調整し、0.1 w/v % 炭酸水素ナトリウム溶液16mlを加える。

c 精製法

① オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィ

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000mg) にメタノール10ml及び水10mlを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに b 加水分解で得られた溶液を

ホップの場合は、検体を粉碎した後、5.00 g を量り採り、水20mlを加えて、2時間放置する。

これにアセトン100ml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50ml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℃以下で約30mlに濃縮する。

これをあらかじめ10%塩化ナトリウム溶液100mlを入れた300mlの分液漏斗に移す。酢酸エチル100ml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300mlの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル50ml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20ml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℃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。

③ 抹茶以外の茶の場合

検体9.00 g を100℃の水540mlに浸し、室温で5分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液360mlを500mlの三角フラスコに移す。これに塩化ナトリウム18 g 及び 4 mol/l 塩酸を加えてpH 1以下に調整する。これをあらかじめ酢酸エチル100mlを入れた1,000mlの分液漏斗に移し、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を300mlの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル1

注入し、流出液は捨てる。

次いで、0.1w/v%炭酸水素ナトリウム溶液及びメタノールの混液（1：1）20mlを注入し、溶出液に4mol/l塩酸5mlを加えてpH1以下に調整する。これに10w/v%塩化ナトリウム溶液100mlを加え、エーテル50mlずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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した後、ろ液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトニトリル及びトルエンの混液（3：1）3mlを加えて溶かす。

- ② グラファイトカーボン/エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル積層カラムクロマトグラフィー  
グラファイトカーボン/エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム（500mg/500mg）にアセトニトリル及びトルエンの混液（3：1）10mlを注入し、流出液は捨てる。

このカラムに①で得られた溶液を注入した後、更にアセトニトリル及びトルエンの混液（3：1）7mlを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル、ギ酸及びトルエンの混液（75：1：25）30mlを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶かし、正確に1ml（茶及びホップの場合には正確に0.5ml）としたものを試験溶液とする。

## 5. 操作法

### a 検量線の作成

2, 4, 5-T標準品のメタノール溶液を数点調製し、それぞれ液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計に注入し、ピーク高法又はピーク面積法により検量線を作成する。なお、4. 試験溶液の調製に従って試験溶液を調製した場合には、試料中0.01mg/kgに相当する試験溶液中の濃度

00ml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てろ過する。次いで酢酸エチル20ml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℃以下で約1mlに濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。

- ④ ①から③までに掲げる食品以外の食品の場合  
①又は②の場合に準じて抽出を行う。

### b 加水分解

a 抽出法で得られた残留物にメタノール20mlを加えて溶かし、100mlのナス型フラスコに移し、1.5mol/l水酸化ナトリウム溶液10mlを加える。これに還流冷却器を取り付けて、80℃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℃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300ml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50ml及び10%塩化ナトリウム溶液100ml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300mlの分液漏斗（II）に移す。これに4mol/l塩酸を加えてpH1以下に調整し、酢酸エチル50ml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300mlの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル50ml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てろ過する。次いで酢酸エチル20mlを用いて三角フラスコを洗い、その洗液で

は0.005mg/lである。

b 定量試験

試験溶液を液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計に注入し、a 検量線の作成により2, 4, 5-Tの含量を求める。

c 確認試験

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計により確認する。

d 測定条件

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2.1mm  
、長さ150mm、粒子径3 μm

カラム温度：40℃に保持する。

移動相：5 mmol/l 酢酸アンモニウム溶液及び5 mmol/l  
1 酢酸アンモニウム・メタノール溶液の混液（7：3）  
から（1：9）までの濃度勾配を20分間で行う。

イオン化モード：エレクトロスプレーイオン化法 ネガ  
ティブイオンモード

主なイオン（m/z）：

プリカーサーイオン253、プロダクトイオン195

プリカーサーイオン255、プロダクトイオン197

注入量：5 μl

保持時間の目安：12分

ろ紙上の残留物を洗う。洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、  
40℃以下で約1 mlに濃縮する。

c ブチルエステル化

b 加水分解で得られた溶液を20ml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℃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50ml及びn-ヘキサン50mlを入れた200mlの分液漏斗に移し、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200mlの三角フラスコに移す。水層にn-ヘキサン50ml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  
にろ過する。次いでn-ヘキサン10ml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。洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で約2 mlに濃縮する。

d 精製法

内径15mm、長さ300mm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c 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）50ml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（3：17）150mlを注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃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-ヘキサンを加えて溶かし、正確に10mlとして、これを試験溶液とする。

(4)～(12) (略)

(13) ダミノジッド試験法

ダミノジッド及び1, 1-ジメチルヒドラジンを分析対象と

5. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品について、4. 試験溶液の調製のc ブチルエステル化と同様に操作して得られたものと一致しなければならない。

操作条件

カラム 内径0.25mm, 長さ30m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 $\mu$ mの厚さでコーティングしたものをを用いる。

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°Cで操作する。

ガス流量 キャリヤーガスとして窒素又はヘリウムを用いる。n-ブチル(2, 4, 5-トリクロロフェノキシ)アセテートが約15分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 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。

c 確認試験

a 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。試験結果は標準品について、4. 試験溶液の調整のc ブチルエステル化と同様に操作して得られたものと一致しなければならない。また、必要に応じて、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

(4)～(12) (略)

(13) ダミノジッド試験法

1. 装置



する。

### 1. 装置

アルカリ熱イオン化検出器、高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ又はガスクロマトグラフ・質量分析計及び水蒸気蒸留装置を用いる。水蒸気蒸留装置はガラス製であり、その概略は、次の図による。

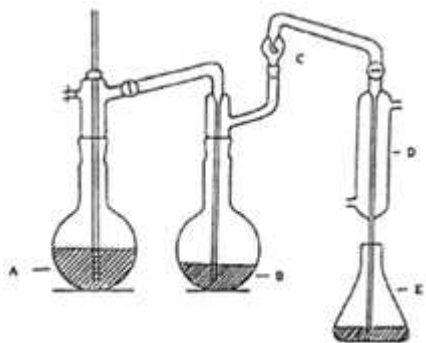
A : 500ml~1,000mlの丸底フラスコ (水蒸気発生用)

B : 500ml~1,000mlの丸底フラスコ (蒸留用)

C : 蒸留トラップ

D : 冷却管

E : 100mlの三角フラスコ



### 2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

アルミナ (塩基性) ミニカラム (1,710mg) 内径8~9mm  
のポリエチレン製のカラム管に、アルミナ (塩基性) 1,71

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、ガスクロマトグラフ・質量分析計並びに水蒸気蒸留装置を用いる。水蒸気蒸留装置はガラス製で、その概略は、次の図による。

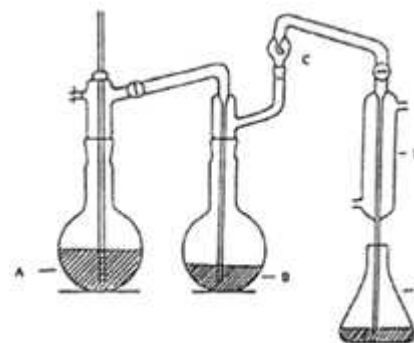
A : 1,000mlの丸底フラスコ (水蒸気発生用)

B : 1,000mlの丸底フラスコ (蒸留用)

C : 蒸留トラップ

D : 冷却管

E : 100mlの三角フラスコ



### 2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトン アセトン300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトンを除去する。この残留物をn-ヘキサン5mlに溶かし、その5 $\mu$ lを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn-ヘキサン以外のピークの高さは、 $2 \times 10^{-11}$ gの $\gamma$ -BHCが示すピークの高さ以下でなければならない

0mgを充填したもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

液相分離ろ紙 化学分析用ろ紙をシリコン処理したものを用いる。

消泡用シリコン シリコンを消泡用に製造したものを用いる。

○-ニトロベンズアルデヒド ○-ニトロベンズアルデヒド (特級)

1 w/v % ○-ニトロベンズアルデヒド・メタノール溶液

○-ニトロベンズアルデヒド100mgにメタノール10mlを加えて溶かす。用時調製する。

n-ヘキサン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

水 蒸留水、精製水、純水等の化学分析に適したものを用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

メタノール 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

リン酸緩衝液 (pH5) リン酸一カリウム13.15 g 及びリン酸二カリウム0.59 g に水を加えて溶かし、100mlとする。

### 3. 標準品

1, 1-ジメチルヒドラジン 本品は1, 1-ジメチルヒドラジン97%以上を含む。

### 4. 試験溶液の調製

#### a 抽出法

##### ① 農産物の場合

穀類、豆類及び種実類の場合には検体を425 μmの標準網ふるいを通るように粉碎して均一化した後、その10.0 gを量り採る。ただし、ふるいを通すことが困難な食品

。塩基性アルミナミニカラム (1, 710mg) 内径8~9mmのポリエチレン製のカラム管に、塩基性アルミナ1, 710mgを充填したもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

消泡用シリコン シリコンを消泡用に製造したものを用いる。

○-ニトロベンズアルデヒド ○-ニトロベンズアルデヒド (特級)

1 %○-ニトロベンズアルデヒド・メタノール溶液 ○-ニトロベンズアルデヒド100mgにメタノール10mlを加えて溶かす。用時調製する。

フェノールフタレイン試液 フェノールフタレイン1 gをエタノール100mlに溶かす。

n-ヘキサン n-ヘキサン300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて5mlに濃縮し、この5 μlを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn-ヘキサン以外のピークの高さは、 $2 \times 10^{-11}$  gのγ-BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

水 蒸留水を用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

メタノール メタノール300mlをすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、メタノールを除去する。この残留物をn-ヘキサン5mlに溶かし、その5 μlを電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上のn-ヘキサン以外のピークの高さは、 $2 \times 10^{-11}$  gのγ-BHCが示すピークの高さ以下でなければならない。

の場合には約2mm角に細切均一化した後、その10.0gを量り採る。

果実及び野菜の場合には検体約1kg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20.0gに相当する量を量り採る。

茶及びホップの場合には検体を425 $\mu$ mの標準網ふるいを通して均一化した後、その5.00gを量り採る。

これに水80mlを加え、細砕した後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に水40mlを加え、細砕した後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、水を加えて正確に200mlとする。この溶液から正確に20ml（茶及びホップの場合には正確に40ml）を丸底フラスコ（蒸留用）に採り、水80mlを加える。

② 畜水産物（乳、卵及びはちみつ以外）の場合

検体を細切均一化した後、その10.0g（脂肪の場合には5.00g）を量り採り、水80ml及びn-ヘキサン40mlを加え、細砕した後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過し、水層及びn-ヘキサン層を分けて採る。

ろ紙上の残留物に上記のn-ヘキサン層を加え、更に水40mlを加えて細砕した後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過する。得られた水層を合わせ、水を加えて正確に200mlとする。この溶液から正確に20ml（脂肪の場合には正確に40ml）を丸底フラスコ（蒸留用）に採り、水80mlを加える。

③ 乳、卵及びはちみつの場合

検体を均一化した後、その10.0gを丸底フラスコ（蒸留用）に量り採り、水80mlを加える。

b 蒸留

リン酸緩衝液（pH5） リン酸一カリウム13.15g及びリン酸二カリウム0.59gに水を加えて溶かし、100mlとする。

3. 標準品

ジメチルヒドラジン 本品は1,1-ジメチルヒドラジン97%以上を含む。

沸点 本品の沸点は62~64℃である。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 穀類、豆類、種実類、果実、野菜、抹茶及びホップの場合

穀類、豆類及び種実類の場合は、検体を420 $\mu$ mの標準網ふるいを通して均一化した後、その5.0gを量り採る。

果実及び野菜の場合は、検体約1kg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10.0gに相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、検体5.0gを量り採る。

ホップの場合は、検体を粉碎した後、5.0gを量り採る。

これに水80mlを加え、振とう機を用いて30分間激しく振り混ぜた後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、水40mlを加え、5分間振とうした後、上記と同様に操作してろ液を1,000mlの丸底フラスコ（蒸留用）中に合わせる。

② 抹茶以外の茶の場合

検体6.0gを100℃の水360mlに浸し、室温で5分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液120mlを1,000mlの丸底フラスコ（蒸留用）に移す。

③ ①及び②に掲げる食品以外の食品の場合

①の場合に準じて抽出を行う。

a 抽出法で得られた丸底フラスコ（蒸留用）に水酸化ナトリウム60 gを水冷しながら少量ずつ加えて溶かす。これに消泡用シリコン1～2滴及び沸騰石を加えた後、直ちに蒸留装置に取り付ける。別に、リン酸緩衝液（pH5）5 ml及びフェノールフタレイン試液1滴を入れた100mlの三角フラスコを水蒸気蒸留装置に取り付け、丸底フラスコ（水蒸気発生用）を加熱しておく。留液が45mlになるまで水蒸気蒸留し、留液が着色しないことを確認する。蒸留が約15分間で終了するように加熱強度を調節する。

c 誘導体化

b 蒸留で得られた留液に1 w/v% o-ニトロベンズアルデヒド・メタノール溶液1 mlを加えて振り混ぜた後、40℃で16時間放置する。これにn-ヘキサン50mlを加えて5分間振とうした後、静置し、n-ヘキサン層を採り、液相分離ろ紙を用いてろ過する。水層にn-ヘキサン50mlを加え、5分間振とうした後、静置し、得られたn-ヘキサン層を合わせる。n-ヘキサン10mlを用いてろ紙上の残留物を洗い、洗液を上記のn-ヘキサン層に合わせ、40℃以下でn-ヘキサンを除去する。この残留物にアセトン及びn-ヘキサンの混液（1：19）5 mlを加えて溶かす。

d 精製法

アルミナ（塩基性）ミニカラム（1,710mg）にアセトン及びn-ヘキサンの混液（1：19）10mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムにc 誘導体化で得られた溶液を注入し、更にアセトン及びn-ヘキサンの混液（1：19）10 mlを注入し、溶出液を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶かし、穀類、豆類、種実類、茶、ホップ及び畜水産物（乳、卵及びはちみつは除く。）の場合には正確に1 ml、果実及び野菜の場合には正確に2 ml、乳、卵及びはちみつの場合には正確に10mlとし

b 蒸留

上記の丸底フラスコに水酸化ナトリウム60 g（野菜及び果実の場合は、65 g）を水冷しながら、少量ずつ加えて溶かす。これに消泡用シリコン1～2滴を加えた後、直ちに蒸留装置に取り付ける。別に、リン酸緩衝液（pH5）5 ml及びフェノールフタレイン試液1滴を入れた100mlの三角フラスコを水蒸気蒸留装置に取り付け、1,000mlの丸底フラスコ（水蒸気発生用）を加熱しておく。留液が45mlになるまで水蒸気蒸留し、留液が着色しないことを確認する。蒸留が約15分間で終了するように加熱強度を調節する。

c 誘導体化

上記の留液に1% o-ニトロベンズアルデヒド・メタノール溶液1 mlを加えて振り混ぜた後、30℃で2時間放置する。これにn-ヘキサン50mlを加えて5分間振とう後、静置し、n-ヘキサン層を採り、液層分離ろ紙を用いて200mlのナス型フラスコ中にろ過する。水層にn-ヘキサン50mlを加え、上記と同様に操作して、n-ヘキサン層をナス型フラスコ中に合わせる。n-ヘキサン10mlを用いてろ紙上の残留物を洗い、洗液をナス型フラスコ中に合わせ、40℃以下でn-ヘキサンを除去する。この残留物にアセトン及びn-ヘキサンの混液（1：19）5 mlを加えて溶かす。

d 精製法

塩基性アルミナミニカラム（1,710mg）にアセトン及びn-ヘキサンの混液（1：19）10mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムにc 誘導体化で得られた溶液を注入した後、アセトン及びn-ヘキサンの混液（1：19）10mlを注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下でアセトン及びn-ヘキサンを除去する。この残留物にアセトンを加えて溶かし、正確に5 mlとし、これを試験溶液とする。

たものを試験溶液とする。

## 5. 操作法

### a 検量線の作成

1, 1-ジメチルヒドラジン標準品の500mg/l水溶液を調製する。その1mlを採り、リン酸緩衝液(pH5)5ml及び水40mlを加えたものに1w/v%o-ニトロベンズアルデヒド・メタノール溶液1mlを加えて振り混ぜた後、40℃で16時間放置する。これにn-ヘキサン50mlを加えて5分間振とうした後、静置し、n-ヘキサン層を採り、液相分離ろ紙を用いてろ過する。水層にn-ヘキサン50mlを加え、5分間振とうした後、静置し、得られたn-ヘキサン層を合わせる。n-ヘキサン10mlを用いてろ紙上の残留物を洗い、洗液を上記のn-ヘキサン層に合わせ、40℃以下でn-ヘキサンを除去する。この残留物をアセトンで溶かした溶液を数点調製し、それぞれガスクロマトグラフに注入し、ピーク高法又はピーク面積法により検量線を作成する。なお、4. 試験溶液の調製に従って試験溶液を調製した場合には、試料中0.1mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.1mg/l(ダミノジッド換算)である。

### b 定量試験

試験溶液をガスクロマトグラフに注入し、a 検量線の作成により1, 1-ジメチルヒドラジンの含量を求め、次式によりダミノジッドの含量を求める。

$$\text{ダミノジッドの含量 (ppm)} = 1, 1\text{-ジメチルヒドラジンの含量 (ppm)} \times 2.665$$

### c 確認試験

ガスクロマトグラフ・質量分析計により確認する。

### d 測定条件

#### ① ガスクロマトグラフ

検出器：アルカリ熱イオン化検出器又は高感度窒素・リ

## 5. 操作法

### a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品について4. 試験溶液の調製c 誘導体化と同様に操作して得られたものと一致しなければならない。

操作条件

カラム 内径0.25mm, 長さ10~30m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0.25μmの厚さでコーティングしたものをを用いる。

カラム温度 60℃で2分間保持し, その後毎分10℃で昇温し, 280℃に到達後5分間保持する。

試験溶液注入口温度 280℃

検出器 280℃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。ジメチルヒドラジンの誘導体が約13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。

### b 定量試験

a 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い, ジメチルヒドラジンの含量を求める。さらに, 次式により, ダミノジッドの含量を求める。

$$\text{ダミノジッドの含量 (ppm)} = 2.67 \times \text{ジメチルヒドラジンの含量 (ppm)}$$

### c 確認試験

a 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。試験結果は標準品について, 4. 試験溶液の調製のc 誘導体化と同様に操作して得られたもの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。

ン検出器付きガスクロマトグラフ  
カラム：トリフルオロプロピルメチルポリシロキサン  
内径0.25mm、長さ30m、膜厚0.25 $\mu$ m  
カラム温度：60℃で2分間保持し、その後毎分10℃で昇温する。280℃に到達後8分間保持する。  
試験溶液注入口温度：250℃に保持する。  
検出器：280℃で操作する。  
キャリアーガス：ヘリウム  
注入量：2 $\mu$ l  
保持時間の目安：15分

② ガスクロマトグラフ・質量分析計

カラム：トリフルオロプロピルメチルポリシロキサン  
内径0.25mm、長さ30m、膜厚0.25 $\mu$ m  
カラム温度：80℃で2分間保持し、その後毎分15℃で昇温する。200℃に到達後、毎分30℃で昇温し、250℃に到達後3分間保持する。  
試験溶液注入口温度：250℃に保持する。  
キャリアーガス：ヘリウム  
イオン化モード（イオン化エネルギー）：EI（70eV）  
主なイオン（m/z）：193、77  
注入量：2 $\mu$ l  
保持時間の目安：9分

(14)～(16) (略)

17 マラカイトグリーン試験法

マラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンを分析対象とする。

1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等

d 検量線

ジメチルヒドラジン水溶液 1mlにリン酸緩衝液（pH5）5ml及び水40mlを加えたものについて4. 試験溶液の調製のc 誘導体化と同様に操作する。

(14)～(16) (略)

17 マラカイトグリーン試験法

マラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンを分析対象とする。

1. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等

の項に示すものを用いる。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトニトリル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

アセトン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

エタノール 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

ギ酸アンモニウム ギ酸アンモニウム (特級)

クエン酸 (無水) クエン酸 (無水) (特級)

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体カラム (500mg) 内径12~13mmのポリエチレン製のカラム管に、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体500mgを充填したもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

四級アンモニウム塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体カラム (150mg) 内径12~13mmのポリエチレン製のカラム管に、四級アンモニウム塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体150mgを充填したもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

50mmol/l ギ酸アンモニウム緩衝液 (pH3.5) ギ酸アンモニウム3.15gを量り、水990mlを加えて溶かし、ギ酸でpH3.5に調整した後、水を加えて1,000mlとする。

### 3. 標準品

マラカイトグリーンシュウ酸塩 本品はマラカイトグリーンシュウ酸塩98%以上を含む。

ロイコマラカイトグリーン 本品はロイコマラカイトグリーン98%以上を含む。

### 4. 試験溶液の調製

の項に示すものを用いる。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

ギ酸アンモニウム ギ酸アンモニウム (特級)

強酸性陽イオン交換体ミニカラム (500mg) 内径8~9mmのポリエチレン製カラム管に、ベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲル500mgを充填したもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

クエン酸・リン酸緩衝液 (pH3.0) 第1液:クエン酸63.0gを量り、水を加えて溶かして1,000mlとする。

第2液:リン酸二ナトリウム215gを量り、水を加えて溶かして1,000mlとする。

第1液に第2液を加えて混和し、pHを3.0に調整する。

ジクロロメタン ジクロロメタン (特級)

水 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

無水硫酸ナトリウム 無水硫酸ナトリウム (特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、酢酸エチル等で洗浄したものを用いる。

### 3. 標準品

シュウ酸マラカイトグリーン 本品はシュウ酸マラカイトグリーン99%以上を含む。

分解点 本品の分解点は164℃である。

ロイコマラカイトグリーン 本品はロイコマラカイトグリーン99%以上を含む。

融点 本品の融点は103℃である。

### 4. 試験溶液の調製

#### a 抽出法

検体を細切均一化した後、その5.00gを量り採り、クエ

a 抽出法

試料を正確に量り、重量比で1/2量の15w/w%ジブチルヒドロキシトルエン・エタノール溶液及び重量比で1/2量の50w/w%クエン酸溶液をそれぞれ加えて磨砕均一化した後、試料10.0g（脂肪の場合には5.00g）に相当する量を量り採る。アセトン100mlを加え、細切均一化した後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50ml（はちみつの場合には水10ml及びアセトン50ml）を加えて細切均一化し、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mlとする。この溶液から正確に1ml（脂肪の場合には2ml）を量り採り、2vol%ギ酸4mlを加える。

b 精製法

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（500mg）にアセトニトリル5ml及び2vol%ギ酸5mlを順次注入し、流出液は捨てる。四級アンモニウム塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（150mg）にアセトニトリル及びアンモニア水の混液（9：1）5mlを注入し、流出液は捨てる。スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムにa 抽出法で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル5mlを注入し、流出液は捨てる。次いで、このカラムの下部に四級アンモニウム塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムを取り付け、アセトニトリル及びアンモニア水の混液（9：1）10mlを注入し、溶出液を採り、アセトニトリル及びアンモニア水の混液（9：1）を加えて正確に10mlとしたものを試験溶液とする。

5. 操作法

a 検量線の作成

ン酸・リン酸緩衝液（pH3.0）10mlを加えて細砕する。これにアセトニトリル15mlを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、毎分3,000回転で5分間遠心分離し、アセトニトリル層を採る。残留物にアセトニトリル15mlを加え、上記と同様に振り混ぜ、遠心分離した後、アセトニトリル層を先のアセトニトリル層に合わせる。

これにn-ヘキサン5ml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採る。これにn-ヘキサン5mlを加え、上記と同様に振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を採る。

これに20%塩化ナトリウム溶液50ml及びジクロロメタン10ml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採る。

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、ろ過する。

b 精製法

強酸性陽イオン交換体ミニカラム（500mg）に、アセトニトリル5mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムにa 抽出法で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル5mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムにアセトニトリル及びアンモニア水の混液（9：1）10mlを注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下でアセトニトリル及びアンモニア水を除去する。この残留物にアセトニトリル1.0mlを加えて溶かし、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 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

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径



マラカイトグリーンシュウ酸塩標準品及びロイコマラカイトグリーン標準品をそれぞれアセトンに溶かして500mg/1 (マラカイトグリーンシュウ酸塩標準品にあつてはマラカイトグリーンとしての濃度) とし、標準原液とする。各標準原液を適宜混合してアセトニトリル及びアンモニア水の混液 (9 : 1) で希釈した溶液を数点調製し、それぞれを液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計に注入し、ピーク高法又はピーク面積法により検量線を作成する。なお、4. 試験溶液の調製に従つて試験溶液を調製した場合には、試料中0.002mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.00001mg/1である。

b 定量試験

試験溶液を液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計に注入し、a 検量線の作成によりマラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンの定量を行う。

c 確認試験

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計により確認する。

d 測定条件

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2.1mm、長さ150mm、粒子径 5  $\mu$ m

カラム温度：40°Cに保持する。

移動相：アセトニトリル及び50mmol/l ige酸アンモニウム緩衝液 (pH3.5) の混液 (3 : 7) から (9 : 1) までの濃度勾配を15分間で行い、(9 : 1) で10分間保持する。

イオン化モード：エレクトロスプレーイオン化法 ポジティブモード

主なイオン (m/z) :

マラカイトグリーン プリカーサーイオン329、プロ

2 ~ 5  $\mu$ m) を用いる。

カラム管 内径2.0~6.0mm, 長さ100~250mmのステンレス管を用いる。

カラム温度 40°C

移動相 アセトニトリル及び0.01mol/lige酸アンモニウムの混液 (1 : 9) から (1 : 0) までの濃度勾配を20分間で行い、(1 : 0) で10分間保持する。マラカイトグリーンが約10分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 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。

ダクトイオン313、165  
ロイコマラカイトグリーン プリカーサーイオン331  
、プロダクトイオン316、239

注入量：10 $\mu$ l

保持時間の目安：

マラカイトグリーン 8分

ロイコマラカイトグリーン 16分

(18) (略)

6～12 (略)

B・C (略)

D 各条

○ 清涼飲料水

1 清涼飲料水の成分規格

(1) (略)

(2) 個別規格

1・2 (略)

3. ミネラルウォーター類以外の清涼飲料水

a ヒ素及び鉛を検出するものであつてはならない。この場合のヒ素及び鉛の試験法は、次のとおりとする。

① (略)

② ヒ素の試験法

ヒ素の試験は、次に掲げるジエチルジチオカルバミン酸銀法により行う。

a. 装置

概略は、次の図による（単位mm）。

(18) (略)

6～12 (略)

B・C (略)

D 各条

○ 清涼飲料水

1 清涼飲料水の成分規格

(1) (略)

(2) 個別規格

1・2 (略)

3. ミネラルウォーター類以外の清涼飲料水

a ヒ素及び鉛を検出するものであつてはならない。この場合のヒ素及び鉛の試験法は、次のとおりとする。

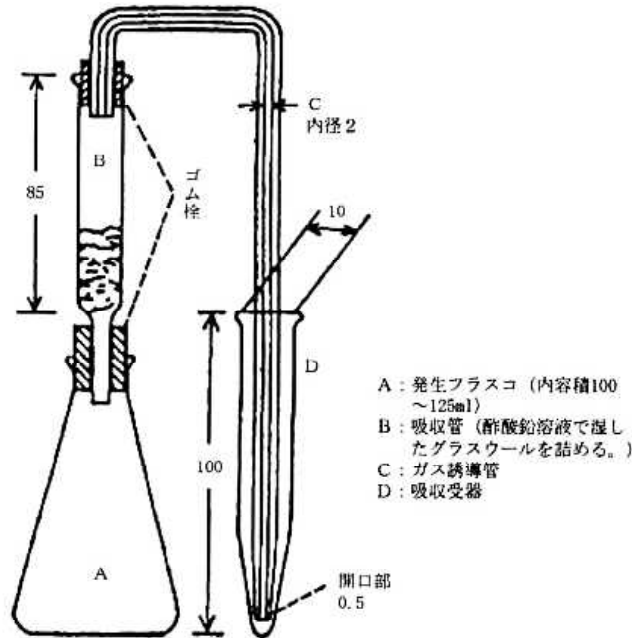
① (略)

② ヒ素の試験法

ヒ素の試験は、イに示すグットツァイト法又はロに示すジエチルジチオカルバミン酸銀法により行う。

イ グットツァイト法

試験溶液3mlを採り、第2 添加物の部B 一般試験法の項の36. ヒ素試験法の中目の装置Aを用いる方法により試験を行うとき、その呈色は標準色より濃くしてはならない。ただし、この場合の標準色は、空試験溶液3mlにヒ素標準液1.2mlを加えた溶液について試験溶液の場合と同様に操作して作る。



b. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

ジエチルジチオカルバミン酸銀ピリジン溶液：ジエチルジチオカルバミン酸銀 1 g をピリジン200mlに溶かし、遮光して冷所に保存する。

砂状亜鉛：20～30メッシュの無機ヒ素亜鉛を1%硫酸銅溶液に黒化するまで浸し、洗浄した後、乾燥する。

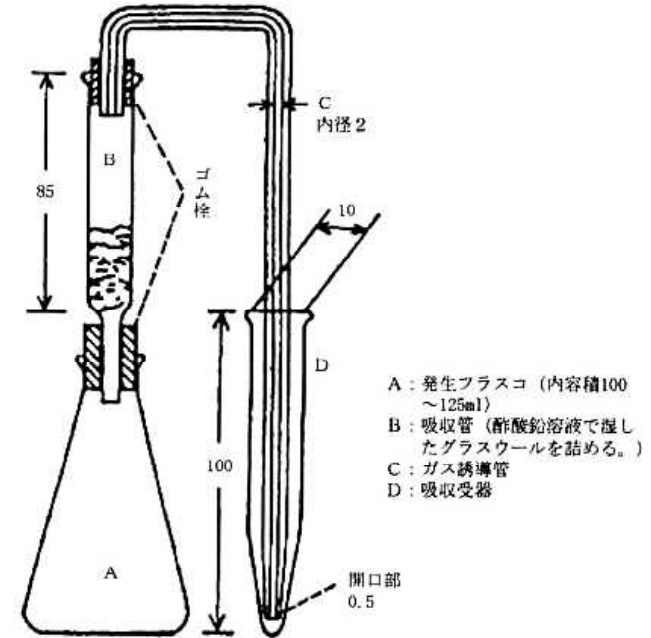
塩化第一スズ溶液：塩化第一スズ 4 g を無機ヒ素塩酸125mlに溶かし、水を加えて250mlとし、共栓瓶に入れ、密栓して保存する。

c. 試験操作

試験溶液10mlを発生フラスコに採り、水を加えて2

ロ ジエチルジチオカルバミン酸銀法

a. 概略は、次の図による (単位mm)。



b. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

ジエチルジチオカルバミン酸銀ピリジン溶液：ジエチルジチオカルバミン酸銀 1 g をピリジン200mlに溶かし、遮光して冷所に保存する。

砂状亜鉛：20～30メッシュの無機ヒ素亜鉛を1%硫酸銅溶液に黒化するまで浸し、洗浄した後、乾燥する。

塩化第一スズ溶液：塩化第一スズ 4 g を無機ヒ素塩酸125mlに溶かし、水を加えて250mlとし、共栓瓶に入れ、密栓して保存する。

5mlとし、塩酸（1→2）5ml，ヨウ化カリウム溶液 2ml及び塩化第一スズ溶液 5mlを加え，室温で15分間放置する。次いで，この発生フラスコに砂状亜鉛 3gを加え，直ちに吸尿管及びガス誘導管を連結し，あらかじめジエチルジチオカルバミン酸銀ピリジン溶液 3mlを入れた吸収受器を接続して20～25℃で1時間放置する。次に，装置を外し，ガス誘導管内の液を吸収受器の吸収液に合わせてよく混和した後，この吸収液を1cmの吸収セルに採り，30分以内にジエチルジチオカルバミン酸銀ピリジン溶液を対照液として波長525nm付近で吸光度を測定するとき，試験溶液の吸光度は，空試験溶液10mlにヒ素標準液 4mlを加えた後，水を加えて25mlとした溶液について，試験溶液の場合と同様に操作して得られる吸光度を超えてはならない。

③ （略）

2～4 （略）

○ 粉末清涼飲料～○ 容器包装詰加圧加熱殺菌食品 （略）

c. 試験操作

試験溶液10mlを発生フラスコに採り、水を加えて25mlとし、塩酸（1→2）5ml，ヨウ化カリウム溶液 2ml及び塩化第一スズ溶液 5mlを加え，室温で15分間放置する。次いで，この発生フラスコに砂状亜鉛 3gを加え，直ちに吸尿管及びガス誘導管を連結し，あらかじめジエチルジチオカルバミン酸銀ピリジン溶液 3mlを入れた吸収受器を接続して20～25℃で1時間放置する。次に，装置を外し，ガス誘導管内の液を吸収受器の吸収液に合わせてよく混和した後，この吸収液を1cmの吸収セルに採り，30分以内にジエチルジチオカルバミン酸銀ピリジン溶液を対照液として波長525nm付近で吸光度を測定するとき，試験溶液の吸光度は，空試験溶液10mlにヒ素標準液 4mlを加えた後，水を加えて25mlとした溶液について，試験溶液の場合と同様に操作して得られる吸光度を超えてはならない。

③ （略）

2～4 （略）

○ 粉末清涼飲料～○ 容器包装詰加圧加熱殺菌食品 （略）