

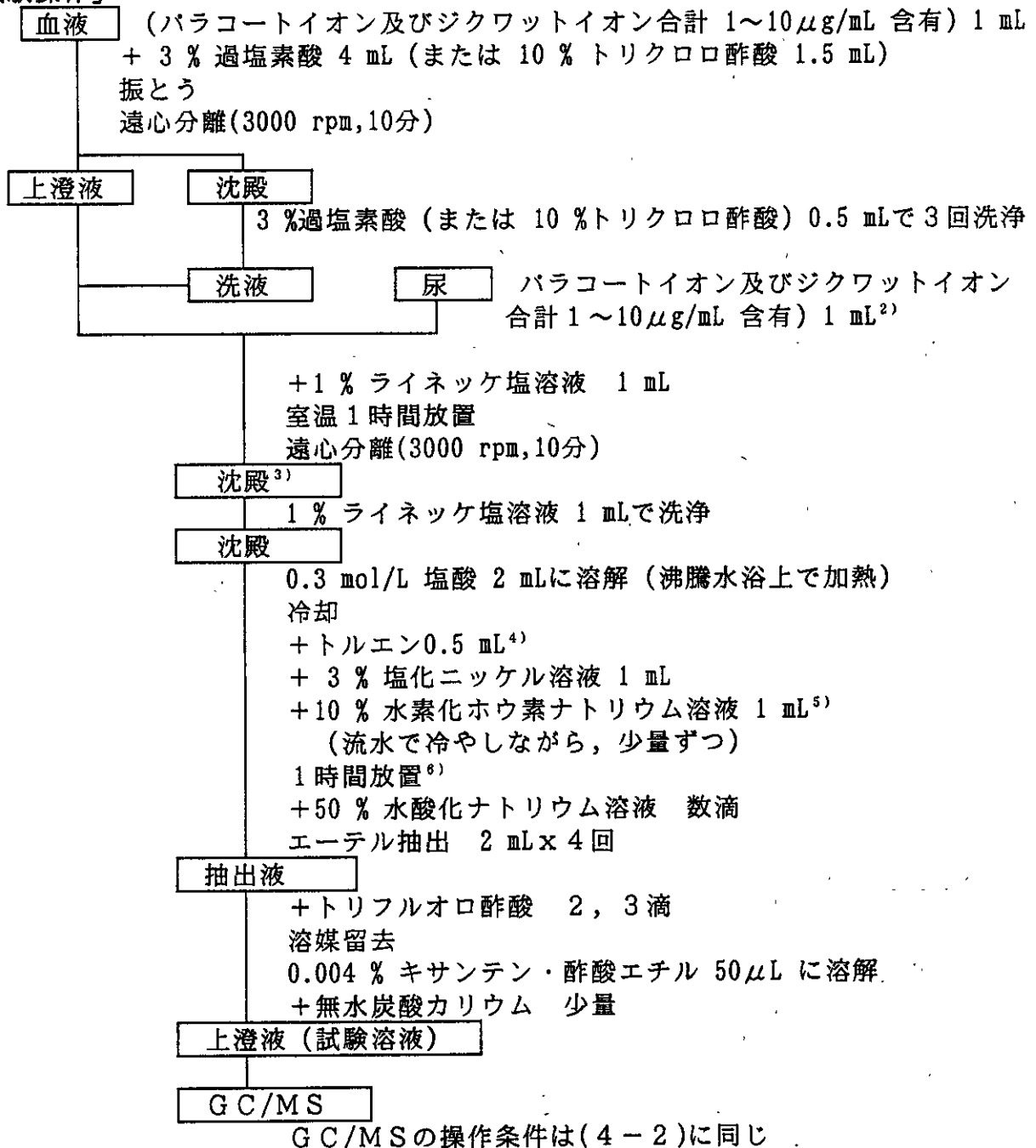
5. 血液及び尿試料からの定量

5-1 ガスクロマトグラフィー/質量分析法

[試薬]

- ① 1% ライネッケ塩溶液：用時調製する
- ② 0.004% キサンテン・酢酸エチル溶液¹⁾

[試験操作]



注解

- 1) キサンテン=ジベンゾピラン, 内部標準物質
- 2) 沈殿物がある場合は遠心分離によって除去する.
- 3) ライネッケ錯体 (パラコートの場合は桃色沈殿, ジクワットの場合は黄色沈殿) はパラコートあるいはジクワット 1 mol に対してライネッケ塩 2 mol から成る.
- 4) 消泡剤として用いる.

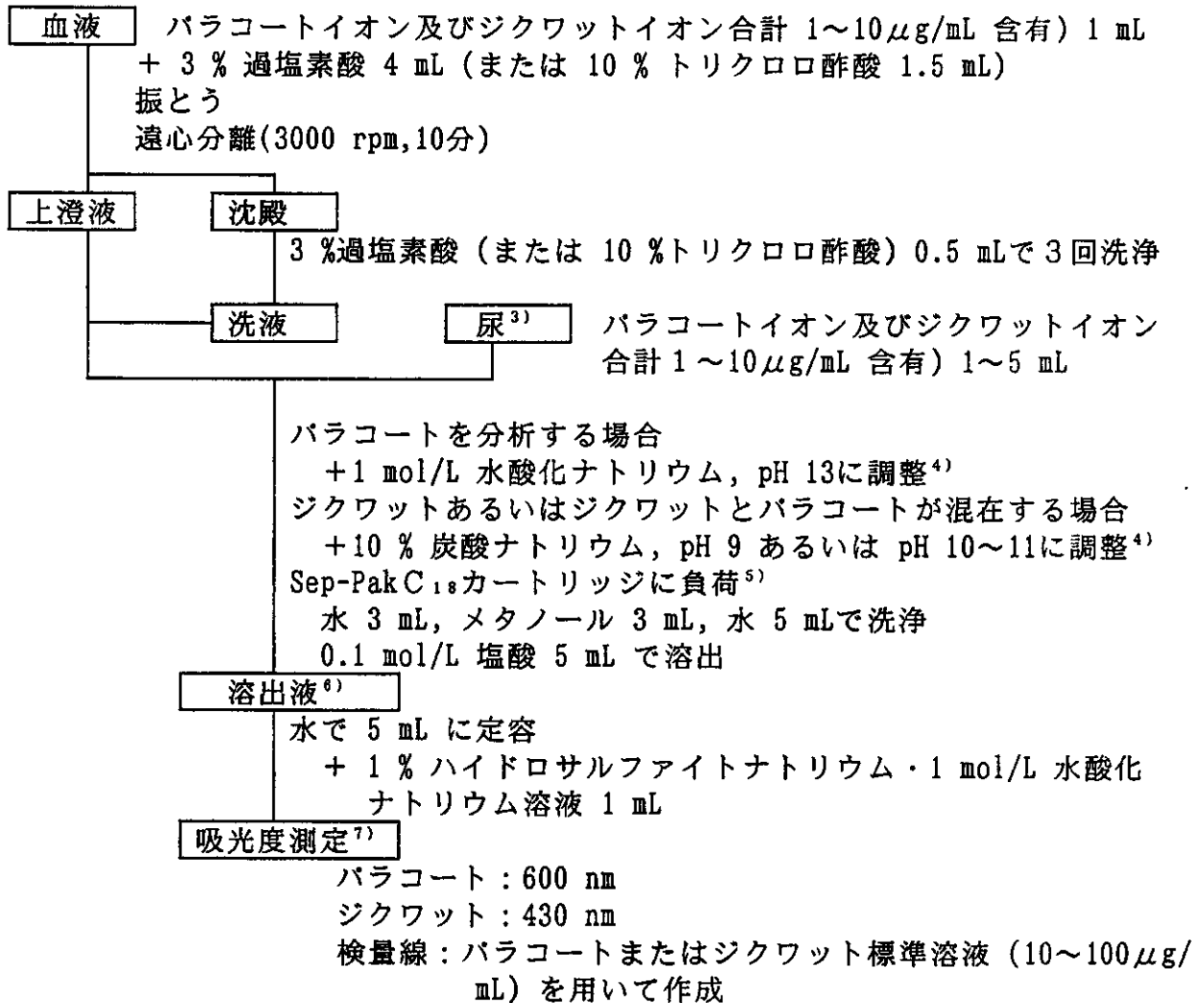
- 5) このとき、直ちに黒色の沈殿（ホウ化ニッケル）を生じ盛んに水素を発生する。
 6) 生成する完全還元物質の構造は4-1の注解4)を参照。

5-2. 吸光度法

[試薬]

- ① Sep-Pak C₁₈カートリッジ¹⁾
 ② 0.1% ハイドロサルファイトナトリウム・1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液²⁾

[試験操作]



注解

- 1) カートリッジは予め水 5 mL, メタノール 5 mL, 水 10 mL で洗浄したものを用いる。
- 2) 調製後 3 時間以内に使用する。1 mol/L 水酸化ナトリウムを試料溶液に加えた後、粉末のヒドロサルファイトナトリウム 10 mg 程度を加えてもよい。
- 3) ジュース、コーラ、コーヒー、牛乳及びアルコール飲料も尿に準じて行うことができる。
- 4) パラコートあるいはジクワットの含量が多い場合、自動還元によって試料溶液は青色あるいは黄~緑色を呈す。
 パラコートが Sep-Pak C₁₈カートリッジに保持される至適 pH は pH 13以上である。一方、ジクワットの至適 pH は pH 9~11にあるため、強アルカリ性下の Sep-Pak C₁₈カートリッジ処理は、ジクワットの回収率低下を招く。

- 5) 流速は 5 mL/min 以内が好ましい。沈殿物がある場合は、ろ過または遠心分離によって除去してから負荷する。
- 6) 溶出液は薄層クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィー/質量分析法などの試験溶液に用いることができる。
- 7) 沈殿物がある場合は、遠心分離によって除去する。パラコートの呈色（青色）は比較的安定であるが、ジクワットの呈色（緑色）は不安定であるので速やかに測定する。

5-3 高速液体クロマトグラフィー

[装置]

高速液体クロマトグラフ：UV検出器付き

[試験操作]

吸光度法(5-2)の試験操作で得られた塩酸溶出液

HPLC

[HPLC操作条件]¹⁾ (文献3)

カラム：Zorbax ODS (内径 4.6 mm, 長さ 250 mm)

カラム温度：45 °C

移動相²⁾：7.5 mmol/l 1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム, 0.1 mol ジエチルアミン, 0.5 mol リン酸を蒸留水に溶解し, 全量を 1000 mL とする。

流速：1.0 mL/min

検出波長：1波長の場合は 290 nm, 2波長の場合は 313 nm (ジクワット) 及び 257 nm (パラコート)

注入量：25 μL

注解

- 1) 保持時間はジクワット約 5.6分, パラコート約 7.0分である。
- 2) 保持時間が大きい場合は, 移動相にメタノールを加えて適宜調節する。

参考文献

- 1) 日本薬学会編：「薬毒物化学試験法と注解」p361~371, 南山堂(1992)
- 2) 角田紀子, 大津留修：「キャピラリガスクロマトグラフィー/質量分析及びキャピラリガスクロマトグラフィー/フーリエ変換赤外分光分析によるパラコート及びジクワットの分析」, 衛生化学, 35, 73-79(1989)
- 3) 田中 晃, 小林正子, 大野陽子：中毒研究, 1, 187(1988)

神経ガス試験法

目次

1. はじめに
 2. 検知紙
 3. ガスクロマトグラフィー及びガスクロマトグラフィー/質量分析法
 4. 高速液体クロマトグラフィー
-

1. はじめに

Sarin, Tabun, Soman, VX, S-mustard等の神経剤の分析法については、角田らの総説（文献1）に詳しい。生体試料から神経剤を検出するための試料調製法は確立されておらず、また中毒者の神経ガス血中濃度はGC/MSの検出レベル以下であることが予想されることから、ここでは主に環境試料からの分析法について示す。

2. 検知紙

検知紙：東洋紡製。液状のマスタード，Vガス，Gガスを検知できる。感度的にガス状の物の検知は困難である。

検知紙に液状の試料を付けて、赤くなればマスタード，黄色くなればサリン，ソマン，タブン，黒くなればVXである可能性がある。検知紙はトルエン等でも変色するので，断定はできない。

3. ガスクロマトグラフィー及びガスクロマトグラフィー/質量分析法

【装置】

ガスクロマトグラフ：水素炎イオン化検出器付きのもの

ガスクロマトグラフ/質量分析計

【GC操作条件】（文献2）

カラム：SE-54 長さ15m，内径0.32mm

カラム温度：40°C-10°C/min-250°C

注入口方式：スプリット

【GC/MS操作条件】（文献3）

カラム：DB-5ms 長さ30m，内径0.25mm，膜厚0.25 μ m

カラム温度：45°C(2min)-8°C/min-125°C-15°C/min-290°C(10min)

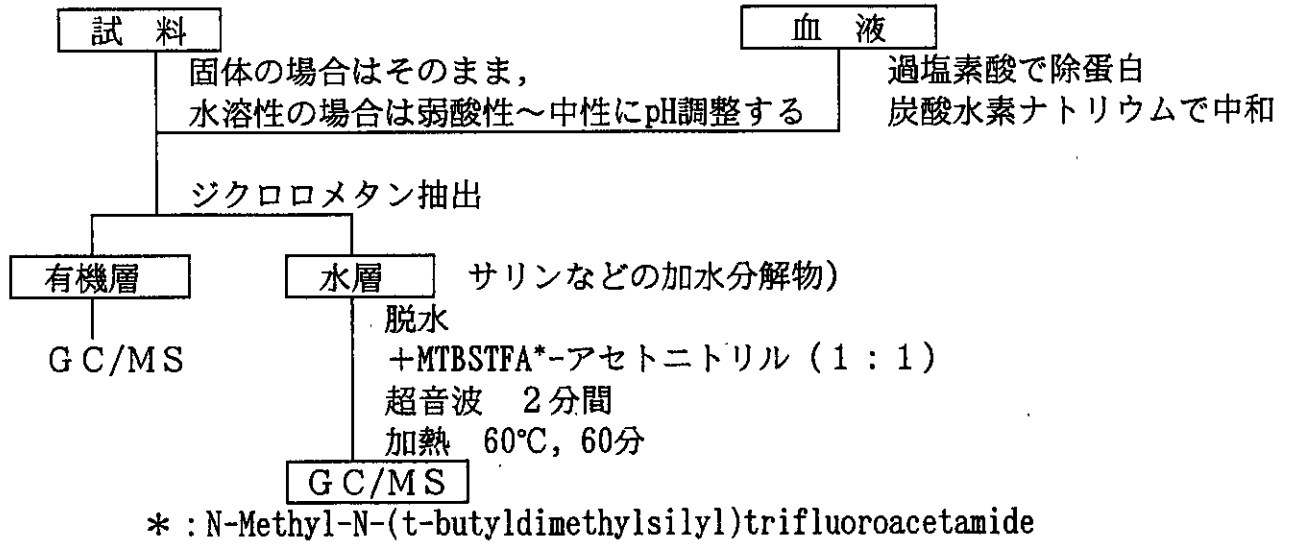
注入口温度：250°C

トランスファーライン温度：250°C

イオン化：EIまたはisobutane-CI

[試験溶液の調製]

1. (文献3)



2. (文献2)

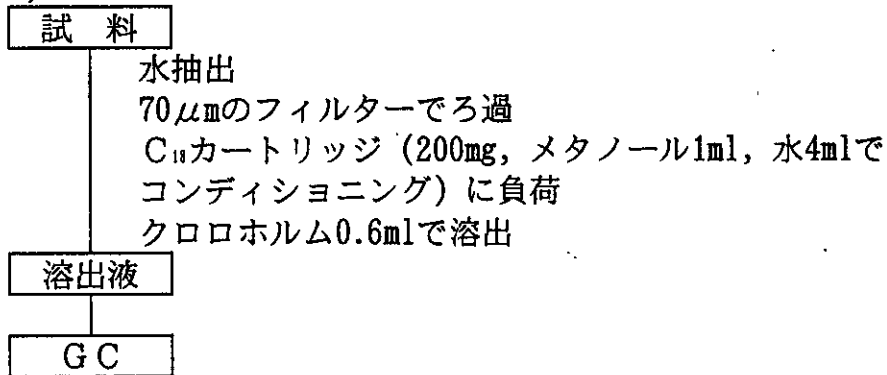


表1 神経剤の添加回収試験結果 (文献2)

試料	回収率 (% , mean ± SD)				
	Tabun	Sarin	Soman	VX	S-mustard
水	86 ± 11	54 ± 3	98 ± 3	36 ± 12	12 ± 1
ガラス	72 ± 22	29 ± 10	27 ± 19	32 ± 21	38 ± 4
土	62 ± 11	36 ± 11	84 ± 6	8 ± 6	29 ± 9
砂	77 ± 7	36 ± 6	73 ± 24	36 ± 6	34 ± 3
紙	82 ± 17	37 ± 5	53 ± 5	18 ± 2	11 ± 1
ブチルゴム	79 ± 12	48 ± 9	79 ± 19	17 ± 8	46 ± 2
ポリウレタン	48 ± 14	15 ± 2	23 ± 11	19 ± 8	5 ± 1
ポリエステル/綿	81 ± 9	55 ± 7	83 ± 18	38 ± 5	32 ± 3

水50ml, 土, ガラス等は1~2gに各化合物1 μgまたは1mgを添加して密閉容器中に30分放置後, 蒸留水50mlで1分間振とう抽出し, 上記の方法で精製, 定量する.

参考文献

- 1) 角田紀子, 瀬戸康雄: 「最近の神経剤分析法について」, 科学警察研究所報告・法科学編, 50, 59~80(1997).
- 2) Tørnes, J.A., Opstad, A.M., Johnsen, B.A.: "Use of solid-phase extraction in detection of chemical warfare agents", Intern. J. Environ. Anal. Chem., 44, 227-232 (1991).
- 3) 角田紀子: 「サリンの分析法」, 中毒研究, 10, 41~48(1997).

かび毒

研究協力者 豊田正武

食品からのアフラトキシン分析法

<抽出>

粉碎試料 (20 g)

| ←アセトニトリル：水 (9：1) 40 mL

振とう 15 min

|

ろ過

|

抽出液

<精製A>

多機能カラム [ISOLUTE MULTIMODE 500 mg; メタノール 5 mL, アセトニトリル：水 (9：1) 5 mL で前処理済み]

| ←抽出液 2 mL

| ←アセトニトリル：水 (9：1) 1 mL

試料液A 3 mL

<精製B>

試料液A (1.5 mL) を減圧乾固

| ←メタノール 1 mL

| ←水 4 mL

試料液A'

アフィニティカラム [Rhone diagnostics AFRAPREP カラム等]

| ←試料液A' (2~3 mL/min)

| ←20%メタノール 5 mL で試料液A' のナスフラスコを洗いこんだもの

| ←水 10 mL で洗浄

| カラム内の水をできる限り排出

| ←20%メタノール 5 mL で洗浄

| ←メタノール 1 mL (1 drop/sec)

| バックフラッシュ 3回

| ←メタノール 1 mL

試料液B 2 mL

<誘導体化>

試料液A (1.5 mL) または、Bを全量減圧乾固

| ←トリフルオロ酢酸 0.1 mL

| 暗所放置 15 min

| ←アセトン：水 (1：9) 0.9 mL

HPLC 試料液

<HPLC条件>

カラム： Inertsil ODS-3 (4.6 x 250 mm + 4.6 x 150 mm)

移動相： 水・メタノール・アセトニトリル (30・15・5)

流速： 1 mL/min

温度： 40℃

検出： 蛍光 (Ex, 365 nm; Em, 450 nm)

注入量： 5 μ L

<確認方法>

・フルオロカーボンカラムを用い、以下の条件でHPLC試料液を分析したとき、同様のアフラトキシンのピークが検出される

カラム： Fluofix 120E (4.6 x 250 mm + 4.6 x 150 mm)

移動相： 水・メタノール (35・15)

流速： 0.8 mL/min

温度： 40℃

検出： 蛍光 (Ex, 365 nm; Em, 450 nm)

注入量： 5 μ L

・アフィニティークラム用いてピークさらに精製してもピークが消失しないこと

・誘導体化しないものではHPLCのピークが消失すること

等で行う。

<対象試料>

精製法Aで、妨害ピークが検出される場合には、精製法Bまで行う。通常香辛料類（コショウ、トウガラシ、ナツメグ、セージ、シナモン、ラベンダー）では、精製法Bまで要求されるが、米、トウモロコシ、コムギ、ソバ、ナッツ類（ピーナッツ、ピスタチオ、アーモンド、カシューナッツ、ヘーゼルナッツ、ブラジルナッツ、ヘーゼルナッツ、マカデミアナッツ、クルミ、ジャイアントコーン）では精製法Aのみで分析可能である。

・多機能カラム+アフィニティークラム法

<検出・定量限界>

HPLCの蛍光検出器の感度によるところが大きいですが、通常0.5 ppb以下の定量限界、0.1 ppb以下の検出限界

<標品>

SUPELCO社から、定量用の標品が入手できる。

<留意点>

・誘導体化の暗所放置は15分が適当で、それ以上の放置では分解することがある。

・標品では誘導体化後、蛍光強度の安定のためHPLC溶液として2時間以上放置後、検量線を作成する。

・アフィニティークラムは、有機溶媒に対し弱いので、負荷時のメタノール濃度は20%以下である必要がある。また、B1,G1に対する保持力は良好だが、B2の保持力はやや悪く、G2では60%程度の回収率となることもある。

<参考文献>

H. Akiyama, D. Chen, M. Miyahara, M. Toyoda and Y. Saito " Simple HPLC Determination of Aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in Nuts and Corn" *J. Food Hyg. Soc. Japan* 37, 195-201 (1996).

合田幸広他 日本食品衛生学会題77回講演要旨、1999年5月（東京）。

食品からのフモニシン分析法

<抽出>

トウモロコシ及びポップコーン、缶詰コーンでは酵素処理の必要はなく直接抽出操作に入れる
粉碎試料 (10 g)

| ←メタノール：水 (3：1) 40 mL

振とう 15 min

|

ろ過

|

抽出液

<酵素処理後抽出>

白米、玄米では以下のアミラーゼ処理が有効。コーンスープの粉等、グアーガムが添加されているものでは、マンノシダーゼ処理が有効。

<<アミラーゼ処理>>

粉碎試料 (10 g)

| ←水 25 mL

| 室温下放置 30 min

| リン酸にて pH 5.0 に調整

| ← α -amylase(1740 U) 1 mg

| インキュベーション 37°C 30 min

| ←メタノール 75 mL

振とう 15 min

|

ろ過

|

抽出液

<<マンノシダーゼ処理>>

粉碎試料 (10 g)

| ←沸騰蒸留水 25 mL

| 室温下放置 30 min

| リン酸にて pH 5.0 に調整

| ← α -amylase(1740 unit) 1 mg

| ← β -mannosidase α (0.2 U/100 μ L) 50 μ L

| インキュベーション 37°C 30 min

| ←メタノール 75 mL

振とう 15 min

|

ろ過

|

抽出液

<精製>

固相抽出カラム [Bond Elut SAX (500 mg); メタノール 5 mL, メタノール：水 (3：1) 5 mL で前処理済み]

| ←抽出液 10 mL

| ←メタノール：水 (3：1) 8 mL で洗浄

| ←メタノール 3 mL で洗浄
| ←メタノール：酢酸 (99：1) 10 mL で溶出
試料液

<プレカラム誘導体化>

キャップ付き 1.5 mL 容エッペンドルフチューブ

| ←試料液 50 μ L
| ←1 mM EDTA を含んだ 0.1 M ホウ酸緩衝液 (pH 9.3) 50 μ L
| ←4-(N,N-dimethylaminosulphonyl)-7-fluoro-2,1,3-benzoxadiazole (DBD-F) のアセトニトリル溶液
| (5 mg/1mL) 50 μ L
| 暗所 60 $^{\circ}$ C で加熱 60 min (アルミニウムブロック使用)
| 水冷

H P L C 試料溶液

<プレカラム誘導体用 H P L C 条件>

カラム： TSKgel ODS-80Ts (4.6 x 150 mm)

移動相 A： 0.05 M リン酸二水素ナトリウム・メタノール (1・1)

移動相 B： アセトニトリル・水 (75・25)

グラジエント条件： 0 min, 100% A; 0-5min, 0-15% B in A; 5-18 min, 15-90% B in A; 18-25 min, 90%
B in A

流速： 0.8 mL/min

温度： 40 $^{\circ}$ C

検出： 蛍光 (Ex, 450 nm; Em, 590 nm)

注入量： H P L C 試料溶液 50 μ L

<ポストカラム誘導体化 H P L C 条件>

カラム： Fluofix 120E (4.6 x 300 mm)

移動相： メタノール・0.1% トリフルオロ酢酸 (1・1)

流速： 0.8 mL/min

温度： 40 $^{\circ}$ C

試薬溶液： 0.08% o-phthalaldehyde (OPA) 及び 0.1% N-acetyl-L-cystein (NAC) を含んだ 0.4 M ホウ酸緩衝液 (pH 10.0)

試薬流速： 0.4 mL/min

混合コイル： 0.25 x 5 mm

反応温度： 50 $^{\circ}$ C

検出： 蛍光 (Ex, 340 nm; Em, 450 nm)

注入量： 試料液 20 μ L

<定量限界>

B1, B2 ともに 10 ppb

<確認法>

ポストカラム誘導体化のカラム条件で分離後 LC/MS が利用できる。

<留意点>

・プレカラム誘導体化、ポストカラム誘導体化選択できる。ポストカラム誘導体化 H P L C は、システムを構築する必要があるが、自動化分析が可能である。

<参考文献>

- 1) H. Akiyama, M. Miyahara, M. Toyoda and Y. Saito "Liquid chromatographic determination of fumonisins B1 and B2 in corn by pre-column derivatization with 4-(N,N-dimethylaminosulphonyl)-7-fluoro-2,1,3-benzoxadiazole (DBD-F)" *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 36, 77-81 (1995).
- 2) H. Akiyama, M. Miyahara, M. Toyoda, Y. Saito, "Determination of fumonisin B1 and fumonisin B2 in grain and corn processed products by HPLC," *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 37, 54-58 (1996).
- 3) H. Akiyama, M. Uraroongroj, M. Miyahara, Y. Goda, M. Toyoda, "Quantitation of fumonisins in corn by HPLC with o-phthalaldehyde postcolumn derivatization and their identification by LC/MS," *Mycopathologia*, 140, 157-161 (1998).

穀類、コーヒー豆からのオクラトキシン分析法

<抽出>

粉碎試料 (5 g)

| ←アセトニトリル：1%リン酸 (99：1) 50 mL

振とう 15 min

|

ろ過

|

抽出液

<精製>

固相抽出カラム [Bond Elut DEA (500 mg); 水 10 mL, メタノール 10 mL, アセトニトリル 10 mL で前処理済み]

| ←抽出液 5 mL

| ←アセトニトリル：アセトン (1：1) 10 mL で洗浄

| ←80%メタノール：酢酸 (99：1) 10 mL で洗浄

| ←80%アセトニトリル：トリフルオロ酢酸 (99：1) 10 mL で溶出

HPLC 試料液

<HPLC条件>

カラム： CapcellPak C8 UG120 (4.6 x 150 mm)

移動相： 水・アセトニトリル・酢酸 (58・40・2)

流速： 1 mL/min

温度： 40℃

検出： 蛍光 (Ex, 335 nm; Em, 465 nm)

注入量： 20 µL

<定量限界>

穀類、コーヒー豆に対し 50 ppb

<確認法>

メチル及びエチルエステル化で確認する。(参考文献参照)

<標品>

Sigma から入手できる

<留意点>

精製に市販のアフィニティーカラムを利用してもよいが、高価である。

<参考文献>

H. Akiyama, C. Dayi, M. Miyahara, Y. Goda, M. Toyoda, "A rapid and clean analysis of ochratoxin A in cereals and coffee beans," *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 38, 406-401 (1997).

H. Terada, H. Tsubouchi, K. Yamamoto, K. Hisada, Y. Sakabe, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 69, 960-964 (1986).

穀類からのデオキシニバレノール、ニバレノールの分析

<抽出>

粉碎試料 (25 g)

| ←アセトニトリル：水 (84：16) 100 mL

振とう 80 min

|

ろ過

|

抽出液

<精製>

固相抽出カラム [Mycosep No. 225]

| ←抽出液 3 mL

試料液 2 mL

| 窒素気流下で蒸発乾固 (50℃)

残査

| ←アセトニトリル：水 (5：95) 0.5 mL

試料液

<HPLC条件>

deoxynivalenol (DON) の分析

カラム： ODS Hypersil (2.1 x 20 mm + 2.1 x 100 mm)

移動相A： 水

移動相B： アセトニトリル

グラジエント条件：0 min, 5% B in A; 0-5min, 5-10% B in A; 5-5.5 min, 10% B in A; 5.5-7.5 min, 10-5% B in A; 7.5-12 min, 5% B in A

流速： 0.4 mL/min

温度： 40℃

検出： UV 220 nm

注入量： 20 μL

<GC前処理>

nivalenol, 3-acetyldeoxynivalenol, 15-acetyldeoxynivalenol の分析

試料液 50 μL

| ←N-trimethylsilylimidazole・N,O-bis(trimethylsilyl)acetamide・trimethylchlorosilane (3：3：2)

| 50 μL

振とう 30℃ 20 min

| ←イソオクタン 0.5mL

| ←0.1 M リン酸カリウム・0.1 M 水酸化ナトリウム (50：29) pH 7 1 mL

攪拌 常温 1 min

|

イソオクタン層 0.1 mL

| ←イソオクタン 0.9mL

GC 試料溶液

<GC条件>

splitless mode

カラム： HP 5 (30 m x 0.32 mm, 0.25 μ m)

インジェクター温度： 250 $^{\circ}$ C

検出器温度： 320 $^{\circ}$ C

キャリアーガス： ヘリウム、2 mL/min

検出ガス： 窒素、80 mL/min

カラム温度： 0-2 min, 80 $^{\circ}$ C; increase to 182 $^{\circ}$ C at 26 $^{\circ}$ C/min; increase to 196 $^{\circ}$ C at 1 $^{\circ}$ C/min; 196 $^{\circ}$ C, 19 min; increase to 285 $^{\circ}$ C at 25 $^{\circ}$ C/min; 285 $^{\circ}$ C, 4 min

検出器： 63 Ni ECD

<確認法>

DON を含めGC/MSで行うことができる

<留意点>

表記の固相抽出カラムを用いることで、クロロホルム等の有害溶媒を用いなくて精製できる。表記のカラムが入手できないときには、文献2、3を参考にして精製が可能である。

<参考文献>

- 1) R.D. Josephs, R. Krska, M. Grasserbauer, J.A.C. Broekaert, J. Chromatogra. A., 795, 297-304 (1998).
- 2) T. Tanaka, A. Hasegawa, Y. Matsuki, K. Ishi, Y. Ueno, Food. Additive and Contaminants, 2, 125-137 (1985).
- 3) M. Jimenez, R. Mateo, J. Chromatogra. A., 778, 363-372 (1997).

穀類からのゼアラレノンの分析

<抽出>

粉碎試料 (25 g)

| ←アセトニトリル：水 (75：25) 100 mL

振とう 80 min

|

ろ過 (Whatman GF/A)

|

抽出液

抽出液 20 mL

| ←リン酸バッファー (pH 7.4) 80 mL

希釈抽出液

<精製>

アフィニティーカラム [Rhone-diagnostics Easi-Extract immuno-affinity column]

| ←リン酸バッファー (pH 7.4) 15 mL で前処理

| ←希釈抽出液 全量 (流速 1.5 mL/min)

| ←水 10mL x2 で洗浄

| カラム内の水をできる限り排出

| ←アセトニトリル 5 mL

試料液

| 窒素気流下で蒸発乾固

| ←アセトニトリル：水 (4：6) 0.25 mL

HPLC 試料液

<HPLC条件>

カラム： Hewlett Packard ODS-Hypersil (2.1 x 100 mm)

移動相： アセトニトリル：水 (4：6)

流速： 0.5 mL/min

温度： 40℃

検出： 蛍光 275/450 nm

注入量： 20 μL

<確認実験>

フォトダイオードアレイ検出器でUVスペクトルを測定する

<参考文献>

R. Schuhmacher, R. Krska, M. Grasserbauer, W. Edinger, H. Lew, Fresenius J. Anal. Chem. 360, 241-245 (1998).

シアン化合物，ヒ素，メタノール 等

研究協力者 豊田正武

シアン化合物試験法^{註1)}

(1) 定性試験 (ピクリン酸紙法) ^{註2)、文献1、2)}

①試薬

酒石酸

ピクリン酸紙：ろ紙を飽和ピクリン酸溶液に浸し、室温で乾燥した後、7×40mmの大きさに切り、用時10%炭酸ナトリウムで潤す。

②操作

試料1gを試験管に入れ、水5mlを加えかき混ぜた後、酒石酸0.5gを加え^{註3)}、ピクリン酸紙をはさんだコルク栓で手早く密栓し、ときどき静かに振り混ぜながら50～60°で1時間放置する。シアン化合物が存在すれば、ピクリン酸紙は赤褐色に変化する^{註4)}。

(2) 定量試験 (ピリジンカルボン酸・ピラゾロン比色法) ^{註5)、文献2、3)}

①試薬

クエン酸緩衝液：クエン酸一水和物128.1g及び水酸化ナトリウム64.4gを水に溶解して1000mlとし、用時、水で10倍希釈して使用する。

シリコンオイル

水酸化カリウム：1%及び1/30%水溶液

リン酸緩衝液：リン酸一カリウム18.62g及びリン酸二ナトリウム40.38gを水に溶解して1000mlとして使用する。

クロラミンT溶液：クロラミンT 1.25gを水に溶解して100mlとして使用する。

4-ピリジンカルボン酸・ピラゾロン溶液：1-フェニル-3-メチル-5-ピラゾロン0.3gをジメチルホルムアミド20mlに溶解し、4-ピリジンカルボン酸1.5gを1M水酸化ナトリウム溶液20mlに溶解した後、塩酸(1+10)で中和し、pH7.0に調整した溶液を加え、さらに加水し100mlとする。この溶液は、10°以下に保存し、10日以上経過したものは使用してはならない。

シアン標準原液：シアン化カリウム25mgを1/30%水酸化カリウム溶液に溶解して100mlとする。(CN 100µg/ml相当)

②操作

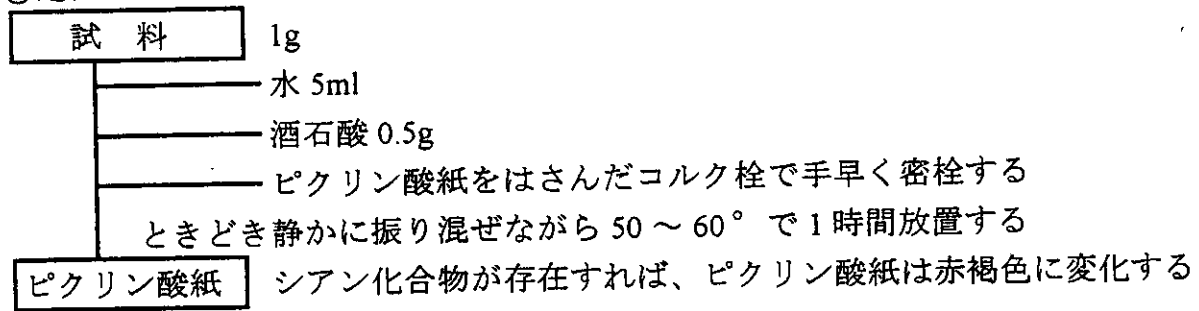
試料15gを水蒸気蒸留装置に入れ、クエン酸緩衝液200ml、水100ml及びシリコンオイル5滴を加え、水蒸気蒸留を行う。受器に1%水酸化カリウム溶液5mlを入れておき、留液が140mlになるまで蒸留し、水を加え150mlとして試験溶液とする。

シアン標準原液を水で10倍に希釈した後、1/30%水酸化カリウムで適宜希釈し、検量線作成用標準溶液とする。

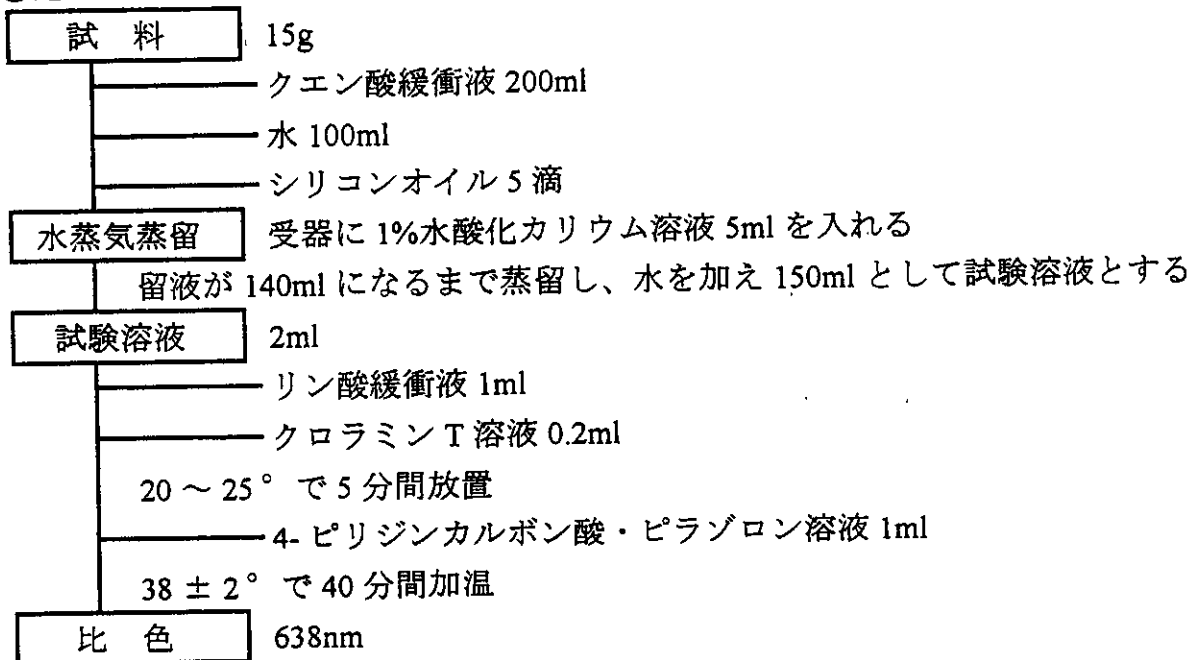
試験溶液及び検量線作成用標準溶液2mlずつを取り、それぞれにリン酸緩衝液1ml及びクロラミンT溶液0.2mlを加え、20～25°で5分間放置後、4-ピリジンカルボン酸・ピラゾロン溶液1mlを加え、直ちに栓をして緩やかに混和してから、振とうしながら38±2°で40分間加温後、波長638nmにて吸光度を測定する^{註6)}。

[解説]

①定性試験（ピクリン酸紙法）のフローチャート



②定量試験（ピリジンカルボン酸・ピラゾロン比色法）のフローチャート



③注解

- 1) 本法はシアン化カリウム、シアン化ナトリウム等、容易にシアン化水素を遊離する化合物の試験法である。シアン配糖体等のシアン化水素を遊離するための操作が必要な化合物の試験法については別法^{x*2)}を参照されたい。
- 2) シアンとピクリン酸が結合して赤褐色を呈する反応に基づく。他に市販の測定キットを利用する方法もあるが、試料が無色透明でないとは測定できないキットがあるので、目的に合わせて使い分ける。
- 3) 酒石酸により試料中のシアンを遊離ガス化する。試料が強塩基性の場合は事前に中和する。
- 4) シアン濃度に応じて、淡褐色(0.2 μ g)から褐色(15 μ g)を経て、赤褐色(50 μ g)となる。
- 5) ピリジン・ピラゾロン比色法の変法である。ピリジン臭が無いので操作しやすく、検出感度はピリジン・ピラゾロン比色法と同等である。他にヘッドスペース・ガスクロマトグラフ法^{x*2)}などがある。
- 6) 本法による定量範囲は、0.5 ~ 20 μ g/g である。

[文献]

- 1) 河村, 内山, 斎藤: 食品衛生学雑誌, 31, 189 (1990)
- 2) 厚生省生活衛生局監修: 食品衛生検査指針, pp.325 (1991) 日本食品衛生協会
- 3) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解 1990 追 1995, pp.91 (1996) 金原出版