平成25年度　林野庁補正委託事業

CLT等新製品・新技術利用促進事業のうち
耐久性等品質向上
成果報告集

平成 27 年 2 月

公益社団法人日本木材保存協会

はじめに

公益社団法人日本木材保存協会は、平成 25 年度林野庁補正委託事業「CLT 等新製品・新技術利用促進」に係る「保存処理された CLT 等木質材料の検査技術の高度化事業」を受託し、実施してまいりました。

高い耐久性を付与することを目的として保存処理された CLT 等木質材料の防腐・防蟻性能は、処理された材料に含まれる薬剤の有効成分量（吸収量）に依存するため、性能の確保および信頼性の向上には吸収量を高精度かつ迅速に測定し、その結果を直ちに工場にフィードバックする必要があります。しかし、現行の製材の日本農林規格（以下、「製材の JAS」と称す）に規定された方法では、最近における樹種の多様化や保存薬剤の変化に起因する分析精度の低下や実験操作の煩雑さによって、高精度かつ迅速に定量分析することが難しく、そのため、保存処理された製品の品質の確保や向上を担保しきれない状況にあります。

そこで本事業では、現状の製材 JAS に規定された分析方法について検討し、保存処理された木質材料についての高精度かつ迅速な分析を阻害している要因を抽出し、ついで阻害している部分に最新鋭の分析方法を適用することで分析の高精度化・迅速化を図り、保存処理された CLT 等木質材料の検査技術の向上を目指すことにしました。

本事業の実施にあたっては、ご協力を賜りました委員各位をはじめ、（公財）日本合板検査会、（公財）日本住宅・木材技術センター、（独）農林水産消費安全技術センター、日本木材防腐工業組合、日本木材保存剤工業会に対しまして厚く御礼申し上げます。

この成果を踏まえて保存処理工場の品質管理の精度を向上させ、また、JAS の検査機関における分析の迅速化・高精度化を図り、以て広く木材、木質材料の需要拡大と性能や品質に対する信頼性の向上に繋がることを期待しています。

平成 27 年 2 月末日

公益社団法人日本木材保存協会

会　長　今村　祐嗣

目　次

はじめに

第 1 章　平成 25 年度林野庁補正委託事業「CLT 等新製品・新技術利用促進事業（耐久性等品質向上）」の概要 1

第 2 章　木材保存剤分析方法高度化研究会委員会等の設置・開催..... 2

第 3 章　事業の必要性と実施内容および成果..... 3

3.1 第四級アンモニウム化合物の定量分析方法の高精度化・迅速化について..... 5

3.1.1　目的 5

3.1.2　実験方法 6

3.1.3　結果と考察 8

3.1.4　まとめ 15

3.2 トリアゾール化合物の定量分析方法の高精度化・迅速化について..... 16

3.2.1　目的 16

3.2.2　実験方法 16

3.2.3　結果と考察 19

3.2.4　まとめ 29

3.3 ネオニコチノイド化合物の定量分析方法の高精度化・迅速化について..... 33

3.3.1　目的 33

3.3.2　実験方法 33

3.3.3　結果と考察 36

3.3.4　まとめ 41

3.4 高精度化・迅速化された分析方法の提案と複数機関での実施..... 44

3.4.1　第四級アンモニウム化合物（DDAC、DMPAP、BKC)の定量分析方法..... 44

3.4.2　トリアゾール化合物（シプロコナゾール、テブコナゾール）の定量分析..... 44

3.4.3　イミダクロプリドの分析方法..... 46

3.5.3　兼松日産農林株式会社..... 61

3.5.4　株式会社ザイエンス..... 64

第 4 章　事業の総括と残された課題..... 69

引用文献 70

第 1 章　平成 25 年度林野庁補正委託事業「CLT 等新製品・新技術利用促進事業（耐久性等品質向上）」の概要

高耐久性の付与を目的として保存処理された CLT 等の防腐・防蟻性能は、保存処理された材料中に含まれる薬剤の有効成分量（吸収量）に依存するため、防腐・防蟻性能の確保および信頼性の向上には、吸収量を高精度かつ迅速に測定し、その結果を直ちに工場にフィードバックする必要がある。しかし、製材の日本農林規格（以下、「製材の JAS」と称す。）に規定された方法では、樹種の多様化に起因する分析精度の低下や実験操作の煩雑さにより、高精度かつ迅速に定量分析をすることができない。そのため、保存処理製品の品質確保・品質向上を担保しきれない状況にある。

そこで、公益社団法人　日本木材保存協会が中心となり本事業において現状の製材の JAS に規定された分析方法について検討し、保存処理 CLT 等の高精度かつ迅速な分析を阻害している要因を抽出した。また、阻害している部分に最新鋭の分析方法を適用することで、分析の高精度化・迅速化を図り、保存処理された CLT 等木質材料の検査技術の高度化行い、正確さを維持しながら迅速に定量できる分析手法の開発を行った。

第 2 章　木材保存剤分析方法高度化研究会委員会等の設置・開催

本事業の実施においては、公益社団法人日本木材保存協会に木材保存剤の定量分析技術の高度化研究会を組織し、事業を推進した。

委員の構成は下記のとおりとした。

	区分	氏名	所属
1	委員長	今村祐嗣	京都大学名誉教授
2	委　員	桃原郁夫	（独）森林総合研究所
3	〃	宮内輝久	（地独）北海道立総合研究機構林産試験場
4	〃	榮澤純二	（公財）日本合板検査会
5	〃	大澤朋子	（公財）日本住宅・木材技術センター
6	〃	赤堀裕一	日本木材防腐工業組合・大日本木材防腐(株)
7	〃	池田　学	日本木材保存剤工業会・(株)ザイエンス
8	〃	中井大二郎	日本木材防腐工業組合・兼松日産農林(株)
9	〃	馬場庸介	日本木材保存剤工業会・住化エンビロサイエンス(株)
10	オブザーバー	大倉宏二	林野庁　木材産業課
11	〃	中熊　靖	農林水産省　消費・安全局
12	〃	横田俊峰	農林水産消費安全技術センター
13	〃	青井秀樹	（独）森林総合研究所
14	〃	須貝与志明	日本木材保存剤工業会・(株)ザイエンス
15	事務局/委員	竹内孝常	公益社団法人日本木材保存協会
16	事務局	石坂清人	公益社団法人日本木材保存協会

この委員の構成でもって、下記のスケジュールにて事業を執り行った。

平成２６年３月２５日	第１回委員会開催
３月～１１月	各実験項目の実施（森林総研・林産試）
８月２１日	第２回委員会開催
１０月７日	中間報告会
１１月～ 平成２７年１月	妥当性の評価に関する室間再現制度確認実験の実施 （森林総研・林産試・その他試験実施機関）
１月１５日	第３回委員会開催（最終・とりまとめ）、
２月５日	成果報告会開催
２月	成果報告書作成、成果報告

第 3 章　事業の必要性と実施内容および成果

保存処理された木材の性能は，処理材中に含まれる有効成分の浸潤状態（浸潤度）と量（吸収量）に依存する。そのため，製材の日本農林規格[1]（以下，「製材の JAS」と称す。）では，処理材中における有効成分の浸潤度と吸収量が規定されている。保存処理材の品質や認証の信頼性を確保するためには，浸潤度と吸収量の測定が高精度に実施されることが必要である。

浸潤度は処理材中央部断面を切り出し，呈色試薬を用い浸潤部を発色させることで評価されるため，比較的容易に分析することが可能である。一方，有効成分量は，同じく処理木材中央断面から，所定の採取方法で切り出した試験片に含まれる有効成分を定量分析することで評価される。処理木材中の有効成分を定量するには，処理木材から有効成分を回収することで分析試料を調製し，機器分析を実施する必要がある（**図 2-1**）。現在，JIS K1570[2]で規定されている加圧注入用の木材保存剤は，ほぼ 100%が有機化合物系の有効成分を用いたもとなっている（**表 2-1**）ため，有効成分の回収は有機溶媒等を用いた抽出による。しかし，製材の JAS で規定されている抽出方法は，必要以上に複雑であること，適切な溶媒や抽出方法が提示されていないこと，木材成分による影響を受けることなどにより高精度かつ迅速な分析を実施することができない場合が少なくない。また，機器分析法についても，より高精度かつ迅速な分析を実施できるものになっていない。

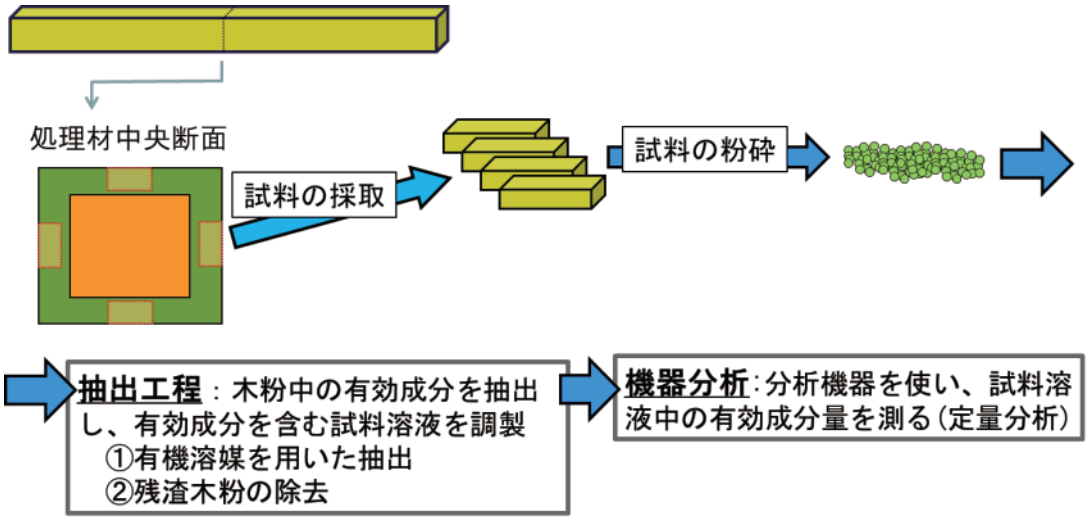

図 2-1　吸収量の分析手順

現在，公共建築物の木造化が進められる中，集成材，単板積層材，合板など木質材料のJASに保存処理規定を設けるための検討が進められており，CLTについても今後検討されることが予想される。これら，木質材料についても，その性能評価は製材の場合と同様の方法，すなわち浸潤度と吸収量で評価されるものと考えられる。

そこで本受託研究では，主要な国産材であるスギ，ヒノキ，カラマツ，トドマツの4樹種を対象に，**表2-1**に示した有機化合物系の有効成分のうち，第四級アンモニウム化合物，ネオニコチノイド化合物について，現在用いられている分析方法の見直しおよび，より効率的な機器分析方法や実験技術の導入を図り，高精度かつ迅速な分析方法を確立することを目的とした検討を行った。

表2-1　対象とする有効成分について

有効成分の分類名	有効成分	木材保存剤の種類
アゾール化合物	シプロコナゾール（CYP）	銅・アゾール化合物系木材保存剤（CUAZ），アゾール・ネオニコチノイド化合物系木材保存剤（AZN），アゾール・第四級アンモニウム・非エステルピレスロイド化合物系木材保存剤（AZAAC）
	テブコナゾール（TEB）	アゾール・第四級アンモニウム・ネオニコチノイド化合物系（AZNA）
ネオニコチノイド化合物	イミダクロプリド（IMD）	AZN，AZNA
第四級アンモニウム化合物	N-アルキルベンジルジメチルアンモニウムクロリド（BKC）	銅・第四級アンモニウム化合物系木材保存剤（ACQ-1）
	ジデシルジメチルアンモニウムクロリド（DDAC）	AZNA，第四級アンモニウム化合物系木材保存剤（AAC-1），ほう素・第四級アンモニウム化合物系木材保存剤（BAAC）
	N,N-ジデシル-N-メチル - ポリオキシエチル - アンモニウムクロリド（DMPAP）	AAC，第四級アンモニウム・非エステルピレスロイド化合物系木材保存剤（SAAC）
非エステルピレスロイド・ピレスロイド化合物	シラフルオフェン（SIL）	SAAC
	エトフェンプロックス（ETO）	AZAAC
	ペルメトリン（PER）	脂肪酸金属塩系木材保存剤（VZN-E）

3.1 第四級アンモニウム化合物の定量分析方法の高精度化・迅速化について

3.1.1　目的

製材の JAS によれば，処理木材中から DDAC および BKC を抽出する場合，塩酸を含むエタノールを溶媒とした加熱還流により行われる。一方，DMPAP の場合，ギ酸を含むエタノールを溶媒とした超音波抽出により行われる。前者の加熱還流では，必要な器具や装置の制約のため，一度に処理できる試料数が少なく，多量の試料の分析では非効率的である。また，腐食性の高い塩酸を含む溶液を用いているため，加熱還流は十分管理された状態で実施する必要がある。一方，後者の超音波抽出は，試料および溶媒を入れた小型の容器を超音波洗浄器内に入れて行うこと，塩酸よりも腐食性の少ないギ酸を用いていること，比較的低温で実施されることから，前者に比べて安全性が高く多量の試料を扱う場合も効率的である。これら第四級アンモニウム化合物の処理木材中の吸着状態は，概ね同様であると予測されることから，DDAC の抽出にも DMPAP の抽出方法が適用できると考えられる。

製材の JAS では抽出された各第四級アンモニウム化合物の機器による定量分析方法として，DDAC および BKC は分光光度法，DMPAP は UV 検出器を用いた高速液体クロマトグラフ（HPLC-UV）法と分光光度法を規定している。分光光度法では，オレンジⅡと呼ばれる色素と第四級アンモニウム化合物を反応させ，生成したイオンペア化合物の 485nm の吸収を利用した定量が行われる。この方法では，オレンジⅡと第四級アンモニウム化合物を反応させるための操作が煩雑であり，また，専用のガラス器具等が必要となるため，効率的な方法とは言い難い。HPLC 法は分析の自動化が容易であるなどの利点があり，多量の試験体の分析も効率的に実施することができる。しかし，DMPAP は HPLC に用いる汎用的な検出器である UV 検出器では直接検出できない。そのため，JAS では HPLC の移動相に UV 吸収剤を添加し，DMPAP をネガティブピークとして検出し，信号を反転させて解析することで定量する方法を用いている。この方法は通常の HPLC 分析よりも複雑であり，また，バックグランドノイズが大きくなるため分析値への影響が懸念される。

近年，様々な分野で蒸発光散乱（ELS）検出器が汎用検出器として HPLC に使用されている[3)]。ELS 検出器は UV で検出できない成分を直接検出することが可能であることから,DMPAP や，同じく UV 検出器で直接検出できない DDAC を直接検出することが可能である。さらに，最近では，HPLC 耐圧性能を向上させることで，分析時間の短縮や使用する溶媒の低減が可能な超高速液体クロマトグラフ（UHPLC）が様々な分野で活用されているが，DDAC や DMPAP が ELS 検出器を用いた UHPLC(UHPLC-ELS)で分析可能であればより迅速な定量分析方法を確立することができると考えられる。

以上のことから，本検討では迅速な分析が可能な UHPLC-ELS を用い，有効成分の抽出工程を見直し定量分析の高精度化，迅速化を図ることを目的とした検討を行った。

3.1.2　実験方法

(1)UHPLC-ELS 分析条件の検討

UHPLC-ELS は AQUITY UPLC H-class システム（Waters 社製）を用いた。カラムは ODS 系カラムである Inertsil ODS3（粒子径：2.0 μm，内径 2.1 mm×100 mm、GL サイエンス）を用い、移動相はメタノール:蒸留水:トリフルオロ酢酸(80:20:0.1)とし、流速を 0.5ml/min とした。カラムオーブンの温度を 40℃とし、ELS 検出器のネブライザーは 30℃、ドリフトチューブは 60℃となるように設定した。

(2) 抽出溶媒および抽出方法の検討

カラマツ心材をカッターミル（IKA 社製）で粉砕し、目開き 2 mmのメッシュを通過した木粉を調製した。DDAC を含む木材保存剤としてペンタキュアニューBM（BM）、DMPAP を含む木材保存剤としてモクボーAAC40EC（40EC）を用いた。BM または 40EC を蒸留水で希釈し、木粉添加用の作業液を調製した。作業液は 0.5g の木粉に 1mL 添加することで、K4 レベルの処理木粉が得られる濃度に調製した。カラマツ心材木粉 0.5g を 30mL 容のサンプル瓶に入れ、BM の作業液、または 40EC の作業液を 1mL 添加し、スクリューキャップをした後、室温下で養生した。養生後、キャップを外し室温で 2 日間、60℃のオーブンで 2 日間乾燥したものを処理木粉とした。作業液中の DDAC および DMPAP を定量するため、木粉を含まないサンプル瓶に 1mL の作業液を入れたものも同様の処理を行った。

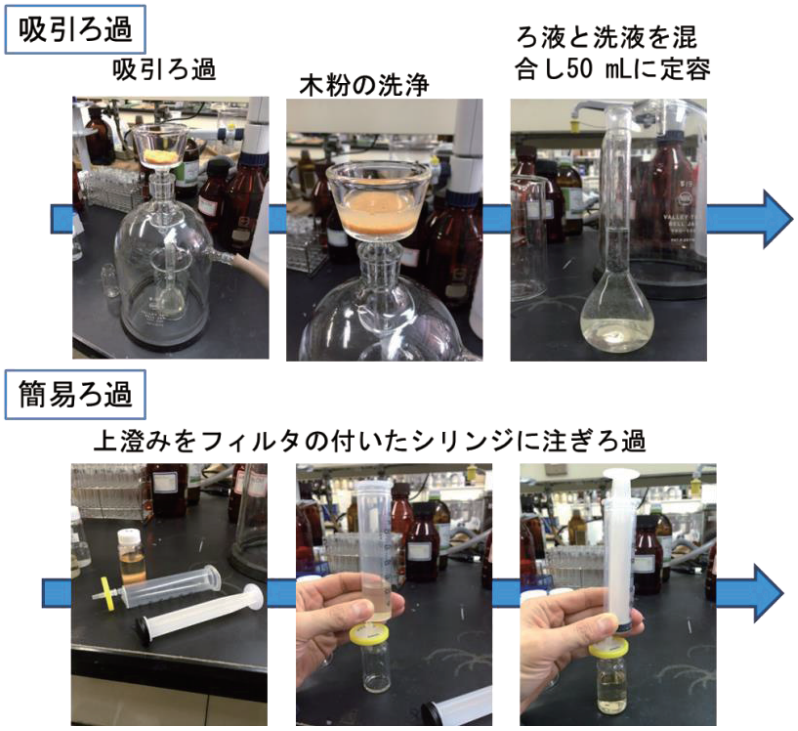

図 3.1.2-1　吸引ろ過と簡易ろ過の方法

抽出溶媒には、製材の JAS に記載されている DDAC の抽出に用いられている塩酸 - エタノール（塩酸 3 に対し、エタノールを加えて全量 100 とする）、DMPAP の抽出に用いられているギ酸 - エタノール(3:100､v/v　＊製材の JAS では5:95)およびギ酸 - メタノール(3:100、v/v）とし、それぞれ 20mL 用いた。抽出方法は還流加熱、または、超音波照射を用いた。還流加熱は塩酸-エタノールのみ実施した。抽出後の溶媒から木粉を除去する方法として、製材の JAS に記載されている吸引濾過またはシリンジフィルター（孔径 0.45μm、φ30 ㎜トムシック社製）による簡易ろ過を行ったものを抽出溶液とした。それぞれのろ過方法を図 3.1.2-1 に示す。作業液のみを添加したサンプル瓶にはギ酸-メタノール 20mL を加え、これを試料溶液とした。

各抽出試料および試料溶液の一部を減圧濃縮乾固し、同容積の移動相に再溶解し、シリンジフィルター（孔径 0.20μm、φ13 ㎜、ADVANTEC 社製）でろ過したものを UHPLC - ELS 分析に供した。各抽出試料と試料溶液中に含まれる DDAC または DMPAP 量から下記の式に従い回収率を求めた。回収率は各樹種毎（辺心材毎）、各抽出方法毎、繰り返し 3 回の平均値として求めた。

回収率（%）＝

［抽出試料中の全 DDAC（DMPAP）量］/［試料溶液中の全 DDAC（DMPAP）量］×100

(3) 複数の樹種を用いた回収率の評価

スギ、カラマツ、トドマツ、ヒノキの心材、辺材を用い、それぞれカッターミル（IKA 社製）で粉砕し、目開き 2 ㎜のメッシュを通過した木粉を調製した。（２）と同様の方法で処理木粉を調製した。また、K2 レベルの処理木粉が得られる濃度に調製した作業液を用いた処理木粉も調製した。作業液中の DDAC または DMPAP を定量するため作業液のみを添加したサンプル瓶についても(2)と同様に調製した。

処理木粉の抽出は抽出溶媒にギ酸 - メタノール（3:100、v/v）20mL 用い、超音波照射により行った。抽出後の溶媒から木粉を除去する方法として、(2)に示した簡易ろ過を用い、抽出溶液を調製した。DDAC や DMPAP と同時に抽出される木材成分が UHPLC-ELS 分析に影響するかどうかを確認するため無処理木粉の抽出溶液も同様の方法で調製した。作業液のみを添加したサンプル瓶にはギ酸-メタノール 20mL を加え、これを試料溶液とした。(2)と同様の方法で、抽出溶液および試料溶液に含まれる DDAC または DMPAP を定量し、回収率を求めた。回収率は各樹種毎（辺心材毎）、各濃度レベルについて繰り返し 3 回の平均値として求めた。

(4)分光光度法（オレンジⅡ法）との比較

DDACおよびDMPAPの機器分析方法として製材のJASで用いられている分光光度法(オレンジⅡ 法)で得られる定量値とUHPLC-ELS分析で得られる定量値を比較するため、(3)でのうち、K4レベルとなるように調製したスギ、カラマツ、トドマツ、ヒノキの心材木粉の抽出溶液とK4レベルの作業液より調製した試料溶液について、オレンジⅡ法による定量分析を実施した。オレンジⅡ 法は次のように実施した。抽出溶液または試料溶液の一部を100mLの三角フラスコに入れ水を加えて約40mLとした後、200mL容の分液ロートに移した。次に、pH3.5の緩衝液10mL、オレンジⅡ溶液3mL、過飽和の食塩水3mLおよびクロロホルム20mLを加えた。分液ロートを5分間激しく振とうした後、約30分間静置した。次に、クロロホルム層の一部を採り、少量の硫酸ナトリウム（無水）を加えて脱水した後、分光光度計（日立ハイテクノロジー社製）を用い波長485nmにおける吸光度を測定することでDDACまたはDMPAPの定量分析を行った。

DDACおよびDMPAPのUHPLC-ELS一部を変更し再分析を行った。まず、移動相に含まれるTFAの比率を変更したメタノール：蒸留水：トリフルオロ酢酸（80：20：0.2）を用いた分析を実施した。さらに、カラムをAQCUITY UPLC BEH C18（粒子径：1.7μm、2.1mm ×75㎜、Waters）に、移動相をアセトニトリル：蒸留水：トリフルオロ酢酸（70：30：0.2、v/v/v）に変更し分析を行った。

3.1.3 結果と考察

(1)UHPLC-ELS分析条件の検討

カラムにInertsil ODS3、移動相にメタノール:蒸留水:トリフルオロ酢酸(80:20:0.1、v/v/v）を用いて分析したところ、DDACのピークは保持時間2分の位置に出現することが確認された(図3.1.3-1)。一方、DMPAPについてもほぼ同じ位置にピークが出現することが確認された(図3.1.3-1)。DDACおよびDMPAPの濃度レベルが異なる試料を分析し、X軸に濃度、Y軸にピーク面積をとり、両対数プロットしたところ直線関係が得られ、DDACおよびDMPAPともUHPLC-ELSによる定量分析が可能であることが確認された。以降、この条件を用いて検討を進めた。

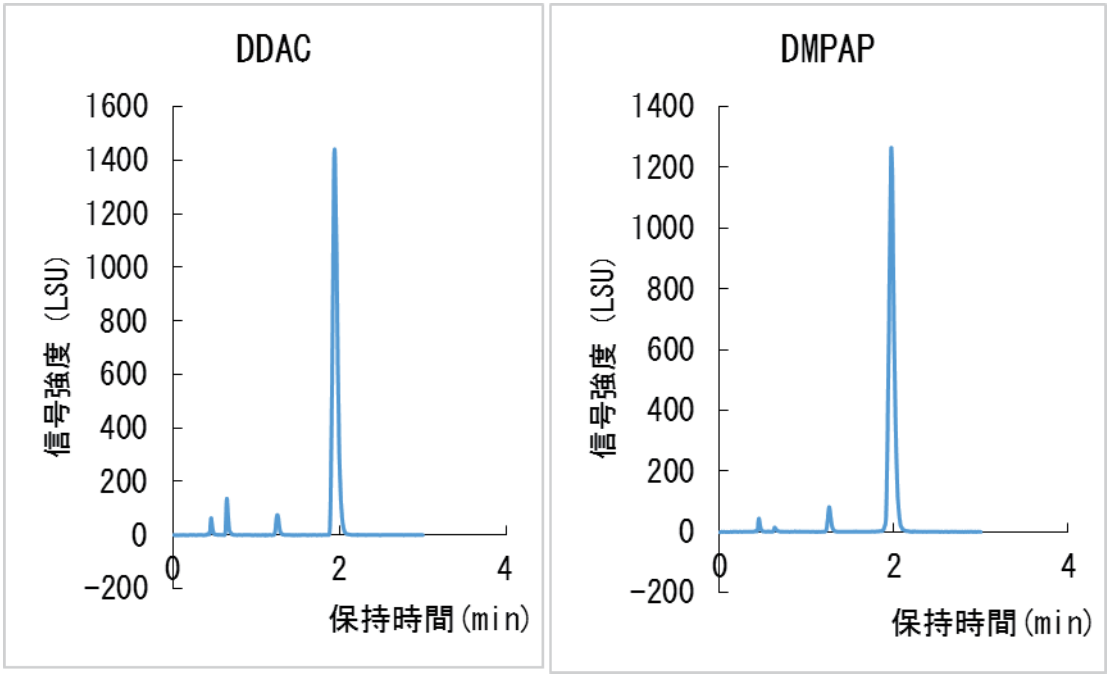

図 3.1.3-1　DDAC および DMPAP の UHPLC-ELS クロマトグラム

（2）抽出溶媒および抽出方法の検討

カラマツ心材の処理木粉に含まれる DDAC を製材の JAS に準じて抽出し（抽出溶媒：塩酸 - エタノール、抽出方法：還流加熱），UHPLC-ELS により定量分析したところ、ほぼ 100%の回収率が得られた（表 3.1.3-1）。なお、すべての UHPLC-ELS 分析は、木材成分が分析に影響しないことを確認して行った。しかし、同じ溶媒で抽出方法を超音波抽出に変更した場合の回収率はこれよりも低く、約 90%程度であった。また、ギ酸 - エタノールを用いた超音波抽出の回収率も約 90%であった。一方、ギ酸 - メタノールを用いた超音波抽出での DDAC の回収率はほぼ 100%であった。以上の結果から、超音波抽出で製材の JAS に記載されている方法と同じ回収率を得るためには、この溶媒を使用することが適切であると考えられた。

JAS の方法では、抽出操作終了後、吸引ろ過により木粉を除去し、残渣木粉を使用したアルコールで洗浄した後、ろ液と洗液を合わせ定容することとされている。この操作を簡便化するため、抽出後静置し、上澄みをシリンジフィルターでろ過した場合の回収率と比較し、ろ過操作を簡便化した場合の影響について評価した。その結果，吸引ろ過と簡易ろ過の回収率には差がないことが確認された（表 3.1.3-2）。また、JAS の方法で抽出した場合も簡易ろ過で回収率に差は認められなかった。以上の結果から、簡易ろ過により効率化できる可能性が確認された。

表 3.1.3-1　DDAC の回収率

抽出溶媒	抽出方法	回収率(%)*	
塩酸 - エタノール	還流加熱	101	(2.0)
塩酸 - エタノール	超音波	89	(1.7)
ギ酸 - エタノール		91	(0.2)
ギ酸 - メタノール		100	(4.1)
*n=3 の平均値，（）は相対標準偏差			

表 3.1.3-2　DDAC の回収率

抽出溶媒	抽出方法	ろ過方法	回収率(%)*	
塩酸 - エタノール	加熱	吸引ろ過	101	(2.0)
		簡易ろ過	101	(0.5)
ギ酸 - メタノール	超音波	吸引ろ過	100	(4.1)
		簡易ろ過	100	(0.5)
* n=3 の平均値、（）は相対標準偏差				

カラマツ心材の処理木粉に含まれる DMPAP を製材の JAS に準じて抽出し（抽出溶媒：ギ酸 - エタノール、抽出方法：超音波抽出），UHPLC-ELS により定量分析したところ、回収率は 72%であった。同じ方法で抽出したものを簡易ろ過した場合もほぼ同じ回収率であった。一方、ギ酸 - メタノールを用いた場合の回収率は、製材の JAS に準じた方法よりも高く，100%に近い回収率を示し(表 3.1.3-3)、この溶媒を用いるほうが適切であると考えられた。また、吸引ろ過と簡易ろ過に差は認められなかったことから，簡易ろ過により効率化できる可能性が確認された。

表 3.1.3-3　DMPAP の回収率

抽出溶媒	抽出方法	ろ過方法	回収率(%)*	
ギ酸 - エタノール	超音波抽出	吸引ろ過	72	(5.2)
		簡易ろ過	74	(3.9)
ギ酸 - メタノール		吸引ろ過	99	(2.2)
		簡易ろ過	99	(3.8)
*n=3 の平均値、（）は相対標準偏差				

以上の結果から、次に検討する「（3）複数の樹種を用いた回収率の評価」では、DDAC および DMPAP を下記の条件で行うこととした。

①抽出溶媒としてギ酸-メタノール（3:100、v/ｖ）を用いる。

②抽出方法は超音波抽出を用いる。

③木粉の除去は簡易ろ過により行う。

（3）複数の樹種を用いた回収率の評価

DDAC や DMPAP と同時に抽出される木材成分が UHPLC-ELS 分析に影響するかどうかを確認するため、無処理のスギ、カラマツ、トドマツおよびヒノキの辺心材から調製した抽出溶液の UHPLC-ELS 分析を実施した。その結果、いずれの場合も DDAC や DMPAP の保持時間に相当する位置に木材成分のピークは認められなかった。図 3.1.3-2 に各樹種の心材から調製した抽出溶液のクロマトグラムを示す。分析に影響するピークが認められなかったため，試料精製等の前処理は必要ないことが確認された。

表 3.1.3-4 に K4 および K2 レベルとなるよう DDAC または DMPAP を添加した各木粉試料からの回収率はいずれも 100%に近い良好な値を示した。このことから、処理木材中の DDAC および DMPAP は、ギ酸-メタノールを用た超音波照射による抽出および簡易ろ過により、効率的かつ高精度に分析できることが確認された。

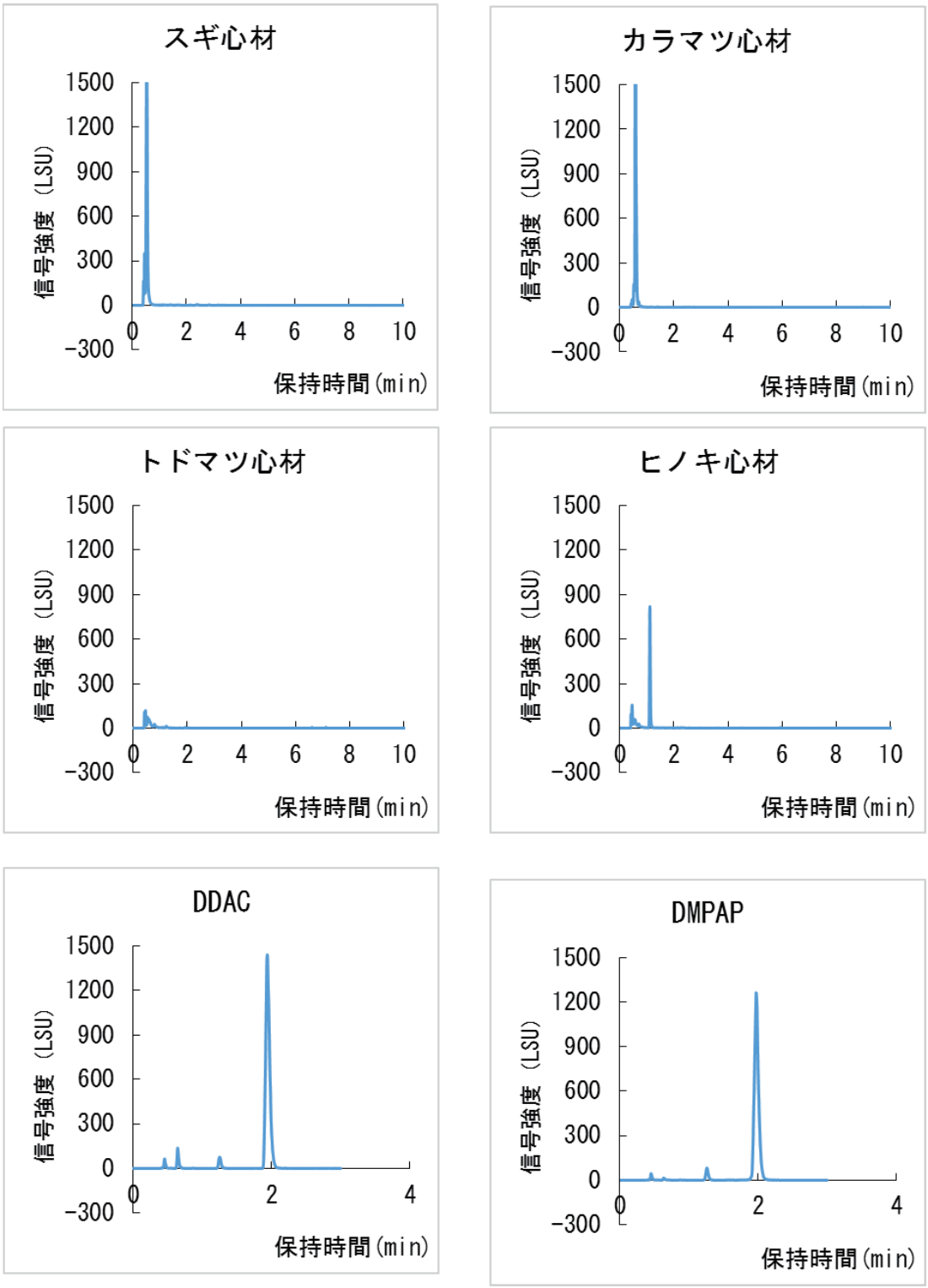

図 3.1.3-2　無処理木粉の抽出溶液と DDAC および DMPAP の HPLC-ELS クロマトグラム

表 3.1.3-4　DDAC および DMPAP の回収率

濃度レベル	樹種	部位	回収率(%)*			
			DDAC		DMPAP	
K4	スギ	辺材	102	(1.1)	99	(1.1)
		心材	100	(1.4)	101	(1.9)
	カラマツ	辺材	100	(0.9)	101	(1.7)
		心材	102	(1.6)	100	(1.0)
	トドマツ	辺材	100	(0.4)	101	(1.0)
		心材	100	(1.9)	102	(2.0)
	ヒノキ	辺材	101	(0.8)	100	(0.8)
		心材	99	(1.9)	100	(0.1)
K2	スギ	辺材	105	(2.3)	100	(1.2)
		心材	105	(1.0)	98	(1.7)
	カラマツ	辺材	104	(1.1)	101	(3.9)
		心材	104	(0.5)	100	(1.0)
	トドマツ	辺材	106	(1.7)	100	(3.3)
		心材	105	(1.4)	99	(3.0)
	ヒノキ	辺材	105	(0.8)	101	(1.8)
		心材	104	(0.7)	99	(0.8)

* n=3 の平均値、（）は相対標準偏差

(4)分光光度法（オレンジⅡ法）との比較

「(3) 複数の樹種を用いた回収率の評価」で調製した抽出溶液について、製材の JAS で規定されている分光光度法(オレンジⅡ法)を用いて DDAC の定量分析を行い、UHPLC-ELS の値と比較した結果を表3.1.3-5に示す。いずれの場合も、UHPLC-ELS のほうが高い値を示し、オレンジⅡ法と比べて 25%ほど高い値を示した。また、作業液から調製した試料溶液についてもオレンジⅡ法で定量分析し UHPLC-ELS の値と比較したところ、これらと同じ傾向を示

した。したがって、UHPLC-ELS、オレンジⅡ法それぞれで定量した結果を用いて回収率を求めた場合、ほぼ同じ値を示した。

表 3.1.3-5　DDAC の定量値の比較

濃度	樹種	部位	木粉中全量(mg)*			
			UHPLC-ELS		分光光度法	
	スギ	心材	15.9	(0.8)	12.7	(0.4)
	カラマツ	心材	15.7	(1.1)	12.5	(0.1)
K4	トドマツ	心材	15.7	(0.9)	12.7	(0.9)
	ヒノキ	心材	15.8	(0.4)	12.8	(0.9)
	作業液(添加量)		15.6	(0.8)	12.6	(0.3)

*n=3 の平均値、() は相対標準偏差

3.1.3(4)に示したように、UHPLC-ELS で使用する移動相やカラムを変更し再分析を行ったが、いずれの場合もほぼ同じ定量値が得られ、UHPLC-ELS による分析値はオレンジⅡ法よりも 25%ほど高かった。次に、検量線を作成するために使用した標品を農薬分析用の標品から、木材保存剤メーカーから提供を受けた標品に変更して定量分析を行った。その結果、UHPLC-ELS とオレンジⅡ法の結果はほぼ同じ値となった(表 3.1.3-6)。なお、検量線の傾きと残差(切片)がほぼ同一であったため表のオレンジⅡ法の値は、表と同一のものを用いた。

表 3.1.3-6　DDAC の定量値の比較

濃度	樹種	部位	木粉中全量(mg)*1			
			UHPLC-ELS		分光光度法*2	
	スギ	心材	12.4	(2.4)	12.7	(0.4)
	カラマツ	心材	12.0	(3.5)	12.5	(0.1)
K4	トドマツ	心材	12.3	(0.9)	12.7	(0.9)
	ヒノキ	心材	12.4	(1.6)	12.8	(0.9)
	作業液(添加量)		12.4	(1.7)	12.6	(0.3)

*1　n=3 の平均値、() は相対標準偏差

*2　表 3.1.3-5 と同じデータ

DMPAP についても、オレンジⅡ法による定量分析を行い UHPLC-ELS の結果と比較したところ、その程度は DDAC の場合よりも低いが、UHPLC-ELS の値のほうがオレンジⅡ法よりも 12

～13%高い値を示した（表 3.1.3-7）。この傾向は、作業液の定量値でも認められ、DDAC と同様に、UHPLC-ELS、オレンジⅡ法それぞれで定量した結果を用いて回収率を求めた場合、ほぼ同じ値を示した。

DMPAP についても、3.1.3(4)に示したように、UHPLC-ELS で使用する移動相やカラムを変更し再分析を行ったところ、高くなる割合が若干低下したが UHPLC-ELS の定量値が高いことに傾向は変わらなかった。

表 3.1.3-7　DMPAP の定量値の比較

濃度	樹種	部位	木粉中全量(mg)*			
			UHPLC-ELS		分光光度法	
K4	スギ	心材	7.2	(2.5)	6.7	(0.3)
	カラマツ	心材	7.2	(1.3)	6.7	(1.0)
	トドマツ	心材	7.4	(2.4)	6.8	(0.8)
	ヒノキ	心材	7.4	(2.3)	6.7	(0.5)
	作業液(添加量)		7.2	(1.1)	6.5	(1.4)

*n=3 の平均値、（）は相対標準偏差

3.1.4　まとめ

DDAC と DMPAP はギ酸-メタノールを溶媒とした超音波照射による抽出方法で効率的に抽出できることが確認された。また、抽出操作を簡便化することで、製材の JAS で用いられている方法よりも効率的かつ迅速に実施できることが確認された。これらの方法は BKC にも適用できると考えられた。機器分析の方法によって定量値に差が生じた点については、今後、より詳細な検討が必要であると考えられるが、抽出工程の効率化により、これまでよりも高精度かつ迅速な分析が可能となった。

3.2 トリアゾール化合物の定量分析方法の高精度化・迅速化について

3.2.1　目的

1990 年以前に主流であった木材防腐剤であるクレオソート油、CCA（銅・クロム・ヒ素）、PCP（ペンタクロロフェノール）などは、有効成分として木材中に添加される量が多く分析が容易であった。また、1990 年代初旬から中旬に相次いで上市された ACQ（銅・N-アルキルベンジルジメチルアンモニウムクロリド剤）、AAC（ジデシルジメチルアンモニウムクロリド剤）なども、製材の JAS の品質 K3 に必要とされる各有効成分量は、いずれも 1 kg/m^3 以上と多いため、これらの有効成分量も原子吸光分析、ICP 発光分析、吸光光度法などで分析可能であった。

これに対し、その後に実用化された旧 CUAZ（銅・ホウ素・テブコナゾール剤）、現 CUAZ（銅・シプロコナゾール剤）、AZN（シプロコナゾール・イミダクロプリド剤）、AZNA（テブコナゾール・ジデシルジメチルアンモニウムクロリド・イミダクロプリド剤）などに含まれる有効成分のうちトリアゾール化合物に分類されるテブコナゾール、シプロコナゾールは、K3 の品質に必要とされる量が先に挙げた有効成分量の 10 分の 1 から 100 分の 1 と非常に少ないため、分析が困難な状況にあった。

シプロコナゾールやテブコナゾールの分析が困難な理由は、これらの成分を高速液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィー分析装置で分析する際に、木材抽出成分を妨害するためである。その問題の解決方法については、固相抽出カラムを用いて木材抽出成分を除去する方法が宮内[4)]らによって示され、最新の JAS にも取り入れられたところである。

今回、固相抽出カラムを用いた木材抽出成分除去方法を活用しながら、一連の分析工程を見直し、分析手順を最適化すること目的に研究をおこなう。

3.2.2　実験方法

(1)木粉調製方法の検討

CUAZ 作業液とメタノールとを 1:1 で混合した液を CUAZ 有効成分量が 1mg/cm^3 となるよう 1×1×２cm のスギ辺材試験片に添加した。試験片を養生した後、室内で乾燥した。

試験体を切断した後サイズの異なるメッシュをつけた IKA 社製ハンマーミル(写真 3.2-1)および IKA 社製分析ミル（写真 3.2-2）で粉砕した。ハンマーミルで粉砕した試料は、メッシュサイズを通過した試料のみを分析に供した（図 3.2-1 左）他、通過した試料と通過しなかった試料とを混合したものについても分析（図 3.2-1 右）した。一方、分析ミルで粉砕した試料は粉砕試料全てを分析に使用した。これらの木粉をメタノールと共にサンプル管に入れ、フタをして超音波照射下 3 時間処理し、シプロコナゾールを抽出した。上澄み液を孔径 0.2μm の親水性 PTFE フィルターでろ過し、ろ液を JAS に記載された方法に従い、固相抽出カラム MCX で精製後 HPLC を用いて分析した。

写真 3.2-1 木粉調製に使用したハンマーミル

写真 3.2-2 木粉調製に使用した分析ミル

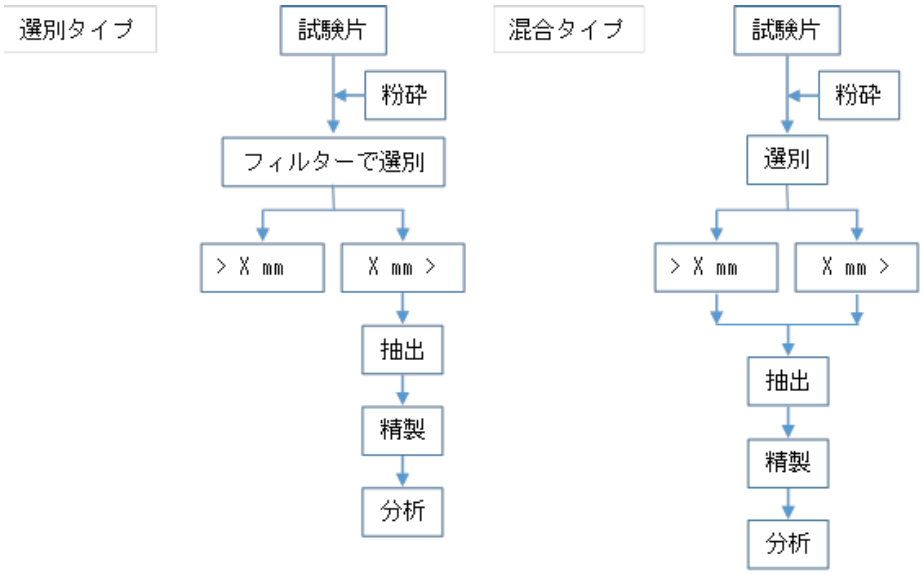

図 3.2-1 ハンマーミルで粉砕した試料の選別タイプと混合タイプの処理手順

(2)抽出方法の検討

(a)抽出時間の検討

サンプル管にスギ辺材木粉 0.5g を添加し、有効成分量が K3 相当となるよう CUAZ 作業液を添加した。サンプル管にフタをし、CUAZ 作業液をスギ木粉に良くなじませた後、室内で 1 週間以上養生し、その後室内で乾燥した。

サンプル管にメタノール 10ml を添加し、時間を 1 時間から 3 時間まで変えて超音波照射下抽出処理をおこなった。その際、抽出中の温度が上昇しないよう、投げ込み式の恒温機を用いて温度が 40℃以下になるよう制御した(写真 3.2-3)。メタノール抽出液を孔径 0.2μm の親水性 PTFE フィルターでろ過し、ろ液を JAS に記載された方法に従い固相抽出カラム MCX

で精製後 HPLC 分析に供した。

写真 3.2-3 実験に使用した投げ込み式恒温機を付けた超音波洗浄機

(b)抽出温度の検討

(a)と同様の実験をおこなった。その際、抽出時間を 3 時間に固定し、抽出温度を変えて試験を実施した。温度コントロールには、写真 3.2-3 にある投げ込み式恒温機を付けた超音波洗浄機を使用した。

(c)抽出溶媒の検討

(a)と同様の方法で調製した木粉を用いて実験をおこなった。サンプル管に、メタノール、アセトニトリル、ギ酸メタノール、アンモニア水添加メタノール等を 10ml 添加し、超音波照射下 3 時間抽出した。上澄み液を親水性 PTFE フィルターでろ過し、MCX カラムによる精製を経て HPLC で分析した。

(3)精製方法の検討

(a)洗浄溶媒の検討

(2)で得たシプロコナゾールを含む木粉のメタノール抽出液を用いて実験をおこなった。抽出溶液 2ml を予めコンディショニングした MCX カラムに注入した後、メタノール 2ml で洗浄した。次いで、1N アンモニア水とメタノールとの比率を変えた溶液 2ml でカラムを洗浄した後、シプロコナゾールを 28%アンモニア水:メタノール＝1:100 (v/v) 2ml で溶出させた。溶出物を HPLC で分析した。

(b)溶出溶媒の検討

(2)で得たシプロコナゾールを含む木粉のメタノール抽出液を用いて実験をおこなった。抽出液 2ml を予めコンディショニングした MCX カラムに注入した後、メタノール 2ml、1N アンモニア水:メタノール＝80:20(v/v)で洗浄し、アンモニア水濃度や溶媒の種類を変えてシプロコナゾールを MCX カラムから溶出させた。溶出物を HPLC で分析した。

(4)HPLC 分析条件の検討

シプロコナゾールおよびテブコナゾールを HPLC で分析する際の、溶媒組成、測定波長、測定時間、その他の測定条件について検討した。溶媒組成については、20mM リン酸緩衝液とアセトニトリルとの比率を変えピーク位置や木粉のメタノール抽出物の妨害を確認した。測定波長については、測定波長と木粉のメタノール抽出物による妨害の影響を確認した。測定時間については、2 分間で測定を打ち切り、直ちに次の分析を開始した場合と、10 分間測定を続けた後、次の分析を開始した場合の結果を比較した。その他の測定条件については、ピーク検出の条件として slope に着目し、slope を変えた場合のピーク検出がどのように変わるかを確認した。

3.2.3 結果と考察

(1)木粉調製が分析結果に及ぼす影響

シプロコナゾールやテブコナゾールなどのトリアゾール系木材保存剤の定量では、トリアゾールを有機溶媒で抽出し、HPLC やガスクロマトグラフで分析できる状態にする必要があるが、その際の抽出効率を上げるためにサンプリングした木材を粉砕し細かくしてから溶媒で抽出するのが一般的である。この粉砕時の木粉サイズについて製材の日本農林規格では特に規定していないが、木粉サイズを小さくすることにより抽出効率が上がると考えられることから、何らかの規定を設けることが妥当だと考えられた。そこで、等量のシプロコナゾールを含有する木材試験片を異なる孔径のメッシュを付けた粉砕機等で粉砕し、異なる粒径の木粉を調製した。この木粉からメタノールでシプロコナゾールを抽出し、MCX カラムで精製した後 HPLC で分析した。分析の結果を図 3.2-1 に示す。

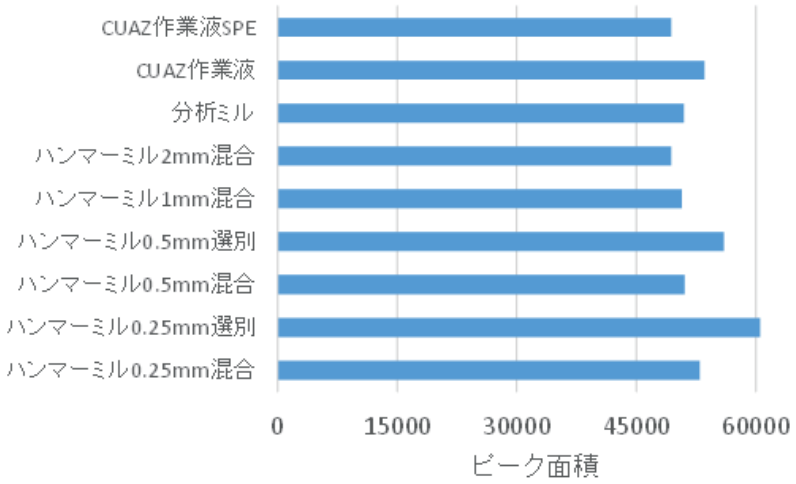

図 3.2-1 木粉サイズが定量結果に与える影響

この図より、ハンマーミルで粉砕し 0.25mm のメッシュを通った試料(ハンマーミル 0.25mm 選別) で高い分析結果が得られることが分かった。しかしこの「ハンマーミル 0.25mm 選別」の値は、木粉に入っていた元のシプロコナゾール量を示す値である CUAZ 作業液の分析結果や CUAZ 作業液を MCX で精製した後に分析した CUAZ 作業液 SPE の値よりかなり大きな値を示した。一方、ハンマーミルで粉砕し 0.25mm のメッシュを通った木粉と通らなかった木粉とを共に回収し分析に供した場合（ハンマーミル 0.25mm 混合）は、CUAZ 作業液、CUAZ 作業液 SPE とほぼ同様の値となった。同様の結果は、ハンマーミルで粉砕し 0.5mm のメッシュを通った試料およびメッシュを通った試料・通らなかった試料を混合した場合にも認められた。一方、分析ミルで粉砕した試料や孔径 1mm のメッシュ、2mm のメッシュを使用して粉砕し再度混合した試料は、CUAZ 作業液、CUAZ 作業液 SPE とほぼ同様の値を示した。

以上の結果は、細かなメッシュを通過するまで粉砕された木粉には、粉砕されなかった部分と較べ、より多くの薬剤（シプロコナゾール）が含まれていることを示唆した。また、粒径をコントロールできないものの、比較的大きな試験体を投入しそれを短時間（数十秒）で木粉にできる分析ミルであっても、細かく粉砕するために手間を要するハンマーミルで粉砕した試験体と同じ結果を得ることができることが分かった。

以上の結果から、正確な分析値を得るためには細かな木粉を選抜するのではなく、試料から作製した木粉全てを使用することが重要であり、木粉全てを使用できない場合は、粒度分布が異ならないよう良く撹拌した試料から、分析用試料を採取することが肝要であると結論された。

(2) 抽出方法の検討

(a) 抽出時間の影響

製材の日本農林規格ではシプロコナゾールを 3 時間かけて抽出するよう指定しているが、その根拠については不明であった。そこで、この抽出時間の妥当性について検証した。図に結果の図を示す。

図から明らかなように、抽出時間を短縮してもピーク面積に変化が認められなかったことから、抽出時間を 1 時間程度まで短縮しても結果に影響しないと考えられた。現行の抽出時間である 2 時間を短縮することで、結果に影響を与えず手間と時間を節約できることになる。

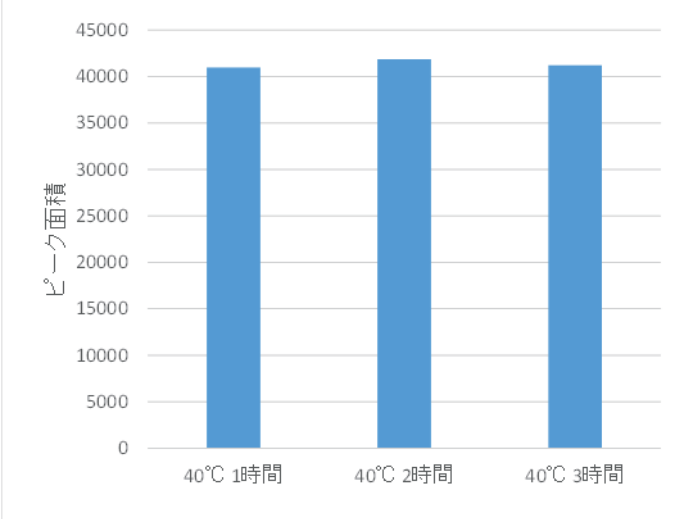

図 3.2-2 抽出時間と定量結果との関係

(b) 抽出温度の影響

製材の日本農林規格では、シプロコナゾールをメタノールで抽出する際の水温を 30℃から 40℃にするよう指定している。しかし、一般に物理化学反応は温度が高くなるに連れて速くなり、短時間で進行するようになることや、メタノールの沸点が 65℃であり、抽出時の温度をより高く保ってもメタノールが沸騰する虞がないことから、抽出時の水温を上げた方がより効率的にシプロコナゾールを抽出できると考えられた。そこで、抽出時の温度の効果を検証した。図 3.2-3 の結果が示すように、抽出温度を高くすることで効率的にシプロコナゾールを抽出できることが示唆された。

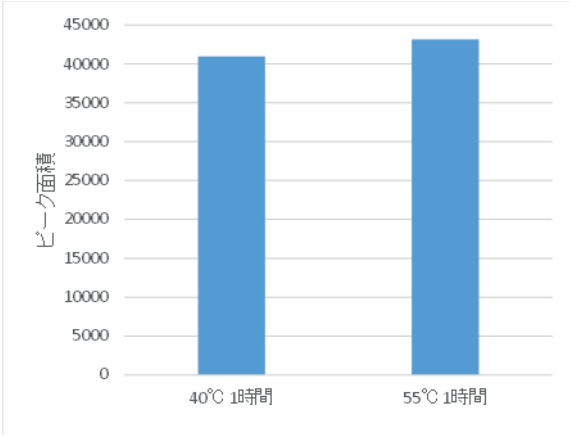

図 3.2-3 抽出温度と分析結果との関係

(c) 抽出溶媒の影響

製材の日本農林規格では、シプロコナゾール、テブコナゾールを始めとするトリアゾールの抽出溶媒にメタノールを指定している。しかし、トリアゾールのみを分析の対象とする場合は、メタノールで抽出することに全く問題がないものの、他の有効成分（例えば、イミダクロプリド）と同時にトリアゾールを抽出する場合は、トリアゾールとイミダクロプリド等とを同時に一回の抽出操作で 100%回収するのが望ましい。

そこで、抽出成分組成を変えてシプロコナゾールを抽出した。結果を図 3.2-4 に示す。検討した溶媒の中ではメタノールで抽出した場合に最も高い値が得られた。一方、メタノールにアセトンを等量加えた溶媒で抽出した場合は、メタノール単独よりも若干低い値となり、アセトニトリル単独ではさらに低い値となった。

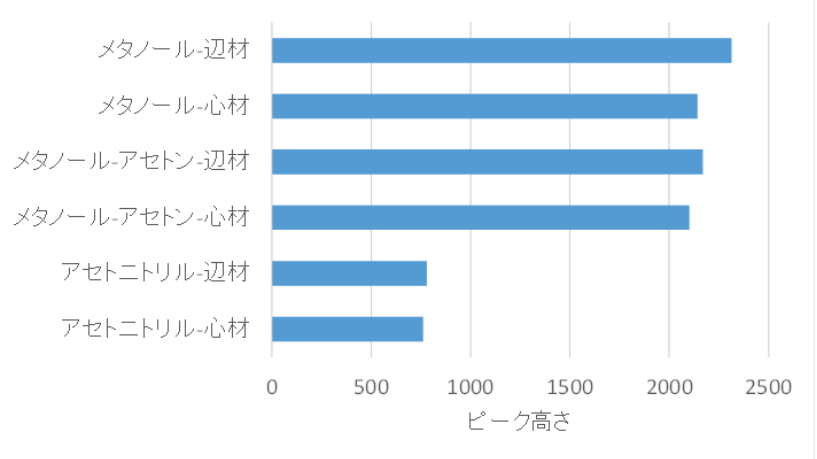

図 3.2-4 抽出溶媒を変えてシプロコナゾールを抽出した際の分析値

(3) 精製方法の検討

(a) 洗浄溶媒の影響

製材の日本農林規格では、シプロコナゾールを含むメタノール抽出物を固相抽出カラム MCX に吸着させた後、メタノールおよびメタノールーアンモニア混液Ａで洗浄するよう規定している。しかし、ヒノキ心材などではメタノールおよびメタノールーアンモニア混液Ａで洗浄した試料であっても、溶出溶媒に木材由来の成分が混入し分析を妨げていることが確認できた。そこで、より洗浄条件を厳しくすることで妨害成分の影響を減らすことができるか確認した。そこで、メタノールーアンモニア混液 A による洗浄条件をより厳しくーメタノール濃度を高くーして洗浄した際の、シプロコナゾール残存量を調べた。図 3.2-5 に示す結果が示すように、1N アンモニア水とメタノールとの比率を 6:4 程度までは上げることが可能であるが、それ以上メタノール濃度を高くすると洗浄時にシプロコナゾールが MCX カラムから脱着することが判った。また、1N アンモニア水とメタノールの比率を 6:4 程度まで上げることにより、回収率が 1-2%低下する可能性も示唆された。

なお、この様にして洗浄した場合であっても、ヒノキ抽出液中に含まれる成分が除去できなかったことから、溶媒比率を変更する必要は無いと結論した。

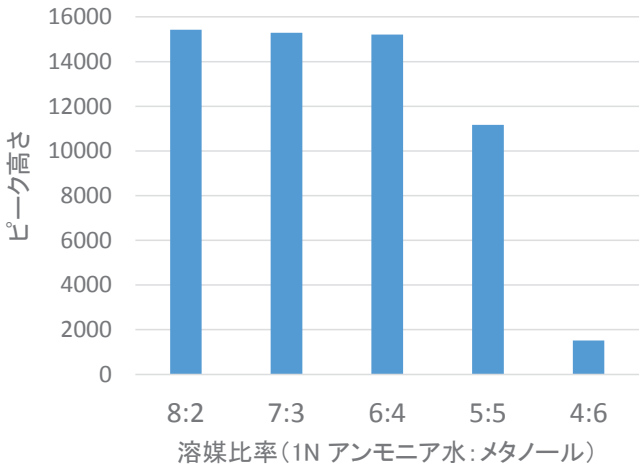

図 3.2-5 MCX カラム洗浄時の 1N アンモニア水：メタノール比が分析結果に及ぼす影響

(b) 溶出溶媒の影響

製材の日本農林規格では、アンモニア水－メタノール混液 B を用いて固相抽出カラム MCX に吸着したシプロコナゾールを溶出させ、それを減圧乾固する工程を経る。このため、全体の作業時間は、減圧乾固に要する時間に影響される。減圧乾固の際は、沸点の低いメタノールが先に無くなり、沸点が高い水が最後まで残ると考えられることから、減圧乾固に要する時間を短縮するためには、溶出溶媒に含まれる水分量を減らすことがポイントとなる。

また、現在のシプロコナゾール分析方法では、溶出液を一旦乾固してから再度 HPLC の移動相に溶解させているが、HPLC 移動相に使用するアセトニトリルで抽出することにより、濃縮乾固の時間を除去できることも考えられた。

そこで、通常の 28%アンモニア水－メタノール混液 B を使用した場合と、混液 B に使用するアンモニア水を 1N アンモニア水に替えた場合、さらにメタノールに替えてアセトニトリルを使用し 1N アンモニア水と混ぜて使用した場合の、3 種条件で固相抽出カラム MCX に吸着したシプロコナゾールを溶出させた。溶出液を乾固した後 HPLC で分析した結果を図 3.2-6 に示す。

この図から、28%アンモニア水を 1N アンモニア水に替えても、シプロコナゾールの分析には影響が無いことが明らかになった。今回の結果から、メタノールに添加する 28%アンモニア水の量を現在の JAS 規格の値である 5%から、1%以下まで減らしても問題ないと考えられた。先に記したように、アンモニア水濃度を減らすことで、濃縮・乾固に必要な時間を短縮できることになる。

一方、1N アンモニア水－アセトニトリル混液を使用した場合でも JAS 規格に記載された方法と同じ値のシプロコナゾールが検出されたことから、アセトニトリル系の溶媒を使用し、溶出後に溶媒の pH を調整することで、時間のかかる濃縮操作無しにシプロコナゾールを分析することが可能になると考えられた。

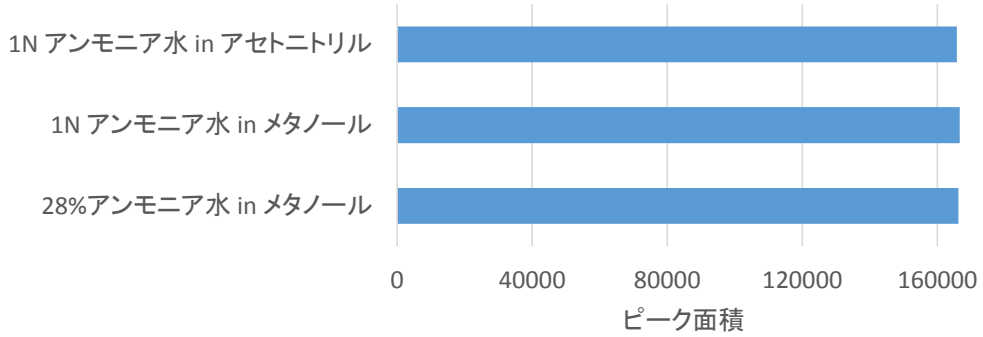

図 3.2-6 溶出溶媒組成が定量結果に及ぼす影響

(4)HPLC 分析条件の検討

(a)移動相組成の影響

HPLC でシプロコナゾールを分析する際には、シプロコナゾールと木材抽出成分との分離を図りながら、分析時間を短縮する必要がある。そこでカラムにガスクロ工業製の ODS3（粒径 3μm、内径 3mm、長さ 150mm）を使用して溶出条件を検討した。なお、検討時の移動相組成はアセトニトリル：20mM リン酸緩衝液＝60:40 (v/v)、同＝50:50 (v/v)とした。木材抽出成分の影響が大きく出た樹種の結果を図 3.2-7 に示す。

アセトニトリル：リン酸緩衝液＝60:40 では、シプロコナゾールが約 2 分で溶出するため分析時間を短縮できるメリットがあった。一方、溶媒の比を 50:50 にすることで、より分離が良くなり、正確に分析できることが示唆された。

(b)測定波長の影響

HPLC を用いた分析では、共存成分の影響をできるだけ受けにくい測定波長を選ぶのが望ましく、そのためには長波長側で測定するのが望ましい。一方、測定感度の点からは、モル吸光係数が大きな短波長側を選択することで低濃度のシプロコナゾールであっても正確に定量できるようになる。

波長と定量とは上記の様な関係にあるため、木材抽出成分がある状態でシプロコナゾールを分析し、どの波長で適切に定量ができるのかについて確認した。結果のクロマトグラムを図 3.2-8 に示す。シプロコナゾールのモル吸光係数の値が大きい波長 195nm におけるピークの方が値の小さい 220nm と較べ、3 倍以上程度ピーク感度が高くなった。一方、当初懸念された木材抽出成分等による妨害は、MCX カラムを用いた精製工程により妨害成分の影響が無視できる程度まで除去できていることから、195nm で測定をおこなったとしても、問題ないと考えられた。

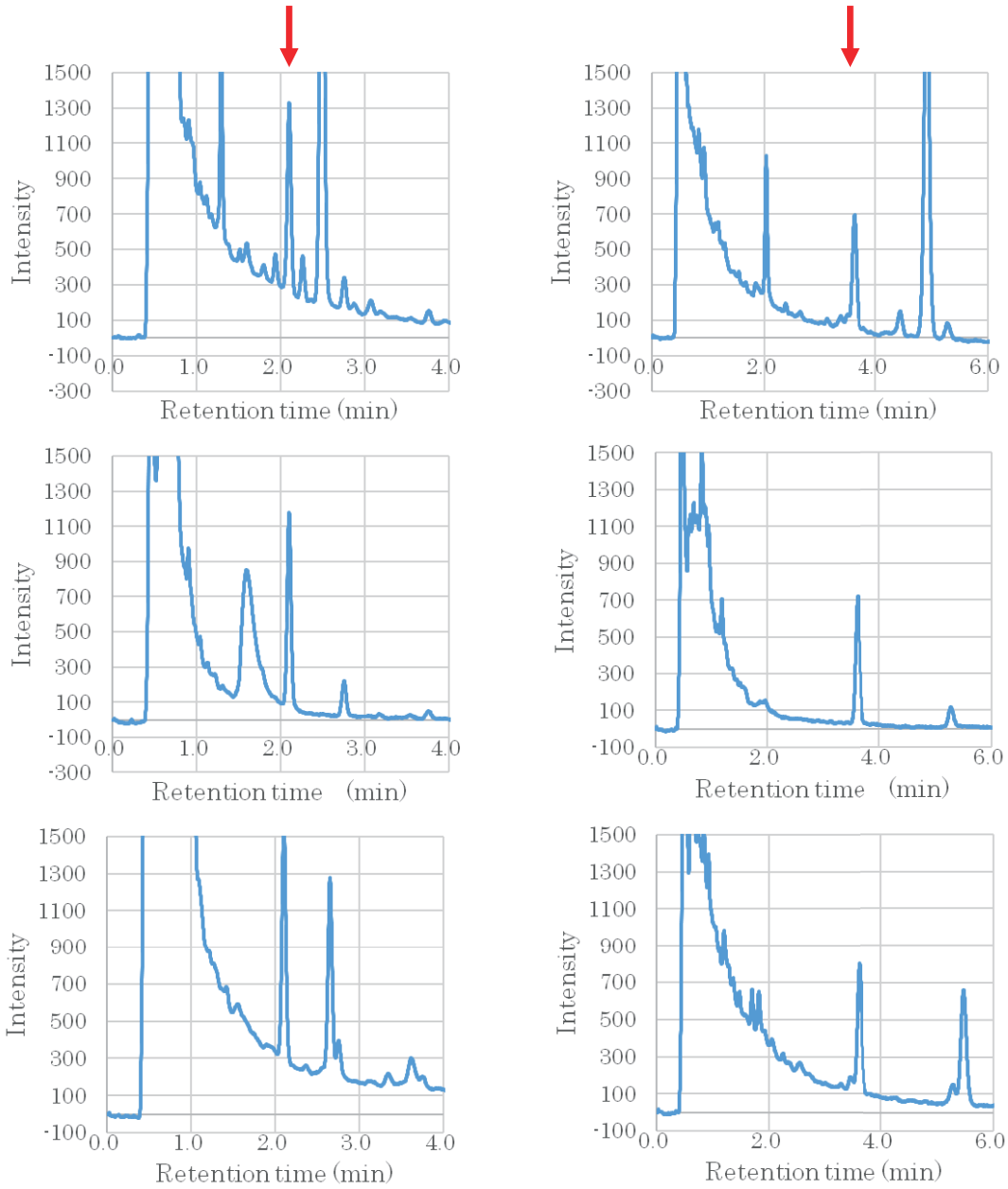

図 3.2-7 移動相組成が分析に及ぼす影響

左：アセトニトリル：20mM リン酸緩衝液＝60:40 (v/v)、右：同＝50:50 (v/v)

上：オウシュウアカマツ心材、中：カラマツ心材、下：ヒノキ心材

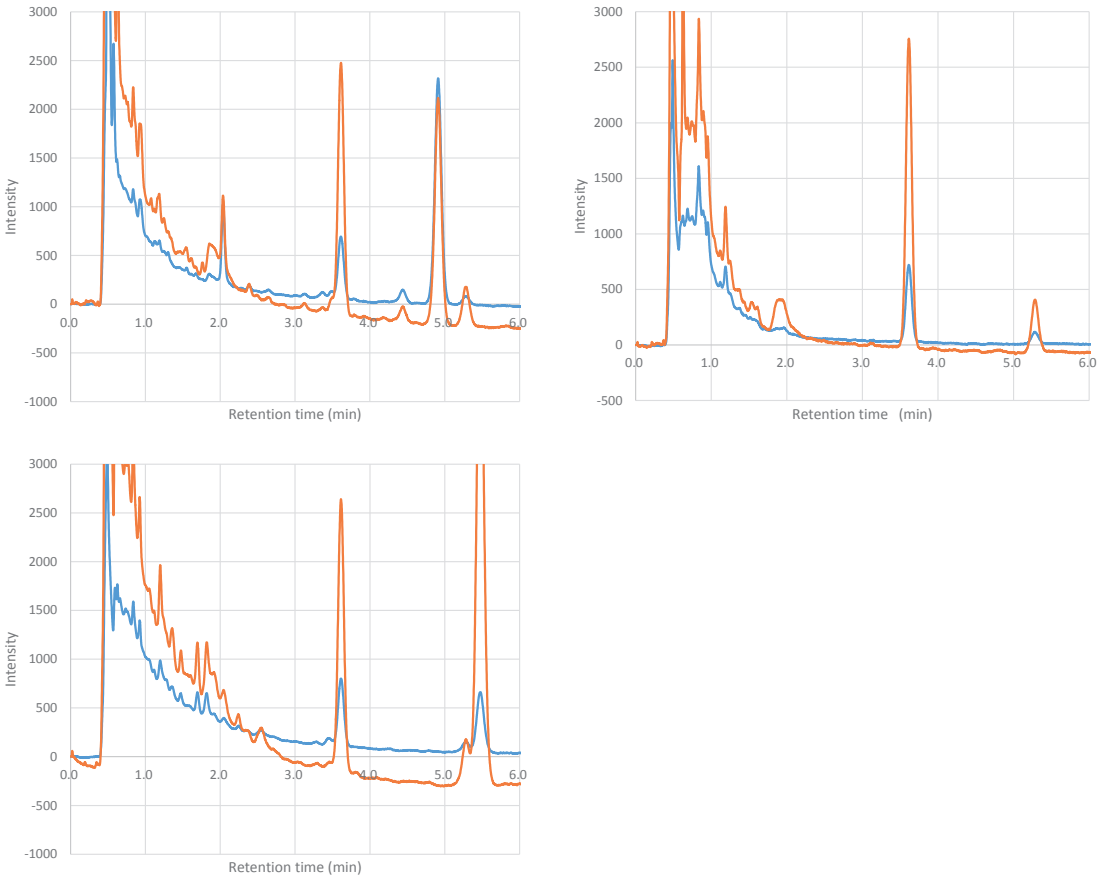

図 3.2-8 波長を変えて測定した際のピーク形状

左上：オウシュウアカマツ心材、右上：カラマツ心材、左下：ヒノキ心材

赤：波長 195nm、青：波長 220nm

(c) ピーク検出条件の影響

木粉から抽出されたシプロコナゾール量を正しく定量するためには、ピーク開始位置と終了位置を決定する必要があるが、HPLC のピーク解析条件を適切に設定していない場合は後から人為的にピーク位置を修正する必要が生じ、そこで測定結果にバイアスがかかる虞がある。この様になることを防ぐため、出来るだけ簡単な設定でピーク位置が正しく検出できる条件を検索した。図 3.2-9 の上の 2 枚のグラフはピーク位置を検出する傾き（slope）を 1,000 に設定したものである。この設定ではベースラインが適切な位置に引かれず、ピーク面積、ピーク高さとも適切とはならなかった。これに対して slope を 10,000 に設定しピーク認定条件を厳しくした場合の結果を図 3.2-9 の下 2 枚のグラフに示す。slope の値を

大きくすることによってベースラインが正しい位置に引かれ、結果として面積および高さも適切な値に近づいた。

一般に slope の値は、試料を注入していない時のベースラインの変動に基づき計算され、その値は 1,000 以下となるのが普通である。しかし、この様に低い slope の値ではシプロコナゾールなどの量を適切に定量できない虞が高いことから、一連の測定をする前に slope の値を高く変更しておくことが望ましいと結論した。

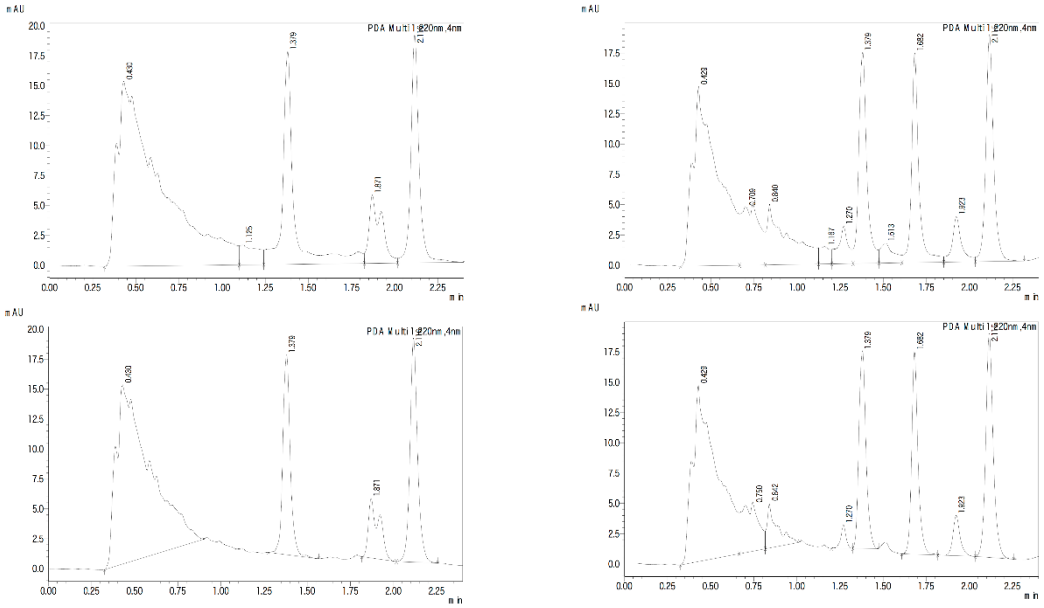

図 3.2-9　slope の値がシプロコナゾールのピーク検出およびベースラインに及ぼす影響
左：ヒノキ心材、右：オウシュウアカマツ心材、上：slope=1,000、下：slope=10,000

(d) 測定時間の影響

多量の試料を分析する場合の測定時間を短くするために、ピーク終了後の早い時点で次の試料を注入するのが一般的である。しかし、分析のサイクルを短くした場合、カラムから溶出していない木材抽出成分が、次の分析を妨害する虞がある。そこで、1.4 分でシプロコナゾールが溶出する条件でシプロコナゾールおよび木材抽出成分を HPLC で分析し、10 分間にわたり波長 220nm および 195nm の吸光度をモニターした。結果の図（図 3.2-10）が示す様に、樹種によってはシプロコナゾールの溶出時間の 2～3 倍後に溶出してくる抽出成分があることが認められた。ピークの大きさはそれほど大きくないものの、場合によっては定量値に影響を及ぼす虞がある。特に正確に定量する必要がある場合は、測定間隔を

長くするなどの対策が必要であると考えられた。図 3.2-11 に図 3.2-10 に基づき、分析サイクルを短くした場合のピーク形状のシミュレーションを示す。

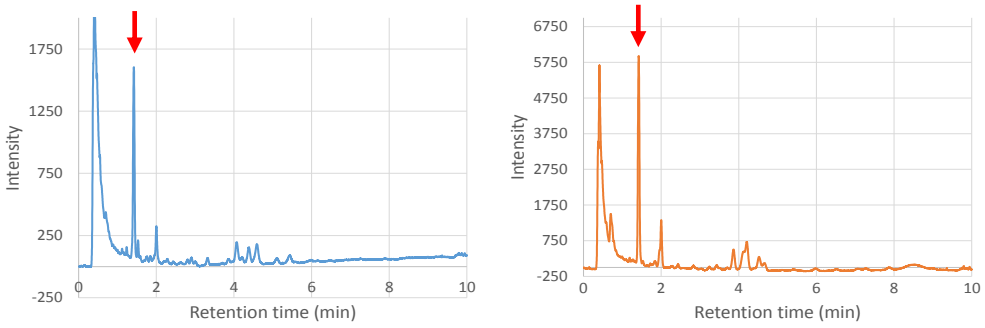

図 3.2-10 シプロコナゾールおよびヒノキ辺材抽出物のクロマトグラム

左：波長 220nm、右：波長 195nm

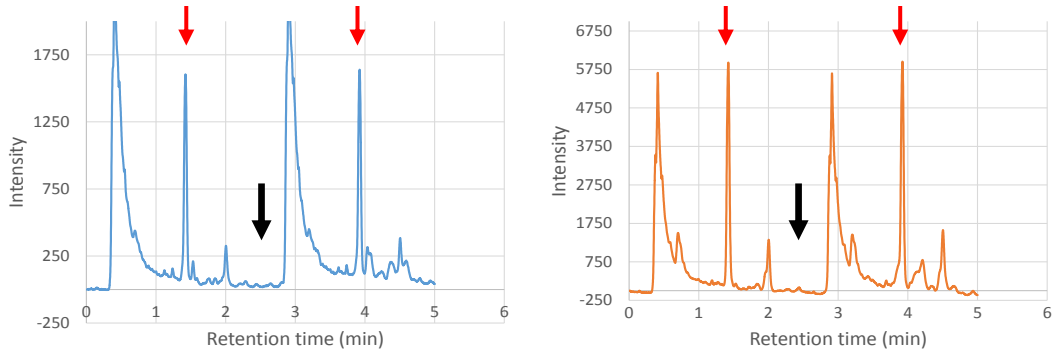

図 3.2-11 ヒノキ辺材より抽出したシプロコナゾールを 2.5 分間隔で分析した場合のクロマトグラム（シミュレーション）

左：波長 220nm、右：波長 195nm

赤矢印：シプロコナゾールのピーク、黒矢印：2 度目のインジェクション

3. 2. 4 まとめ

ここまで記してきた内容をまとめ、現時点でトリアゾール系有効成分の分析方法としてベストと考えられる手順を以下に記す。

・**木粉の調製**

・試験体は分析ミルで 30～60 秒間粉砕し、それを全量使用する。
（全量使用できない場合は、分析に使用する粒度分布が全体の粒度分布と等しくなるよう細心の注意を払って木粉を採取する。）

・**抽出操作**

・精秤した木粉を所定量のメタノールと共に密閉容器に入れ、超音波照射下 1 時間以上抽出する。

・抽出時の温度は、抽出溶媒が沸騰しない範囲で高いほうが好ましい。

・メタノール抽出液をシリンジフィルター（孔径 0.2μm または 0.45μm）でろ過し、固形分を除去する。

・**精製操作**

・ろ液の一部を正確に所定量抜き取り、予めメタノールおよびイオン交換水でコンディショニングしておいたミックスモードの陽イオン交換固相抽出カラムに添加する。

・トリアゾールを吸着させた固相抽出カラムをメタノールおよび 1N アンモニア水：メタノール＝80:20 で洗浄する。洗浄に使用する溶媒量はそれぞれ 2ml とする。

・カラムに吸着したトリアゾールをアンモニア含有メタノール（28%アンモニア水 1ml をメタノール 100ml に加えたもの）で溶出させる。その際の液量は 2.5ml とする。

・得られた溶出液を遠心濃縮機やエバポレーター等を用いて完全に乾固させる。

・**HPLC 分析**

・有効成分がシプロコナゾールの場合は アセトニトリル:20mM リン酸緩衝液＝ 5:5(v/v)、テブコナゾールの場合は 同＝6:4 (v/v)を目処に移動相を調製し、分析前にカラムを平衡化する。

・測定に使用する波長は、220nm 付近または 195nm 付近とする。

・ピーク検出条件のうち slope の値を高めに設定し、分析時のベースラインが適切に引かれるよう調整しておく。

・乾固した残渣に HPLC 移動相を所定量加え、1 分以上超音波を照射しながら移動相を良く撹拌し、残渣に含まれるトリアゾールを完全に移動相に溶解させる

・移動相をシリンジフィルター（孔径 0.2μm で 0.45μm）でろ過し、固形分を除去し、HPLC に注入する。

・サンプルを注入して得られたピーク高さと標品のピーク高さの比から、サンプル中のトリアゾール量を求める。

・厳密な定量が要求される際は、分析サイクルをピーク出現時間よりも数倍長めに設定する。

各樹種の辺材または心材から調製した木粉に CUAZ を K2 または K4 の濃度となるよう添加し養生した試料を、上記の方法で定量した結果を表 3.2-1 に示す。ほぼ全ての試料でシプロコナゾール量がほぼ等しい値となっていることから、樹種の影響を受けず定量されていると考えられた。

また、各樹種の辺材または心材から調製した木粉に AZNA を K3 の濃度となるよう添加し養生した試料を、上記の方法で定量した結果を表 3.2-2 に示す。AZNA の場合も、今回の方法により適切に定量できることが確認できた。

表 3.2-1 CUAZ で処理した木粉の分析結果

樹種と辺・心材	K2		K4	
	ピーク高さ	対平均(%)	ピーク高さ	対平均(%)
オウシュウアカマツ心材	2459.0	90.9	10358	96.5
オウシュウアカマツ辺材	2662.5	98.5	10883	101.4
カラマツ心材	2754.5	101.9	10930	101.8
カラマツ辺材	2748.5	101.6	11014	102.6
スギ心材	2742.0	101.4	10532	98.1
スギ辺材	2716.0	100.4	10808	100.7
トドマツ心材	2806.5	103.8	10918	101.7
トドマツ辺材	2789.5	103.2	10999	102.5
ヒノキ心材	2748.5	101.6	10711	99.8
ヒノキ辺材	2761.0	102.1	10976	102.3
ベイツガ心材	2625.0	97.1	10394	96.8
ベイツガ辺材	2667.5	98.6	10267	95.6
ベイマツ心材	2677.0	99.0	10586	98.6
ベイマツ辺材	2754.5	101.9	10726	99.9
ホワイトウッド心材	2668.5	98.7	10830	100.9
ホワイトウッド辺材	2684.0	99.3	10817	100.8

樹種と辺・心材	ピーク高さ	対平均(%)
オウシュウアカマツ心材	88641	99.7
オウシュウアカマツ辺材	90143	101.4
カラマツ心材	90268	101.5
カラマツ辺材	90868	102.2
スギ辺材	89862	101.1
トドマツ心材	89460	100.6
トドマツ辺材	90083	101.3
ヒノキ心材	88813	99.9
ヒノキ辺材	90493	101.8
ベイツガ心材	89205	100.3
ベイツガ辺材	75263	84.6
ベイマツ心材	89821	101.0
ベイマツ辺材	90166	101.4
ホワイトウッド心材	90492	101.8
ホワイトウッド辺材	90317	101.6

図 3.2-2 AZNA で処理した木粉の分析結果

3.3 ネオニコチノイド化合物の定量分析方法の高精度化・迅速化について

3.3.1　目的

表 3-1(p)に示すように、JIS K1570 に記載されている木材保存剤に使用されているネオニコチノイド化合物はイミダクロプリドのみである。製材の日本農林規格に規定されたイミダクロプリドの定量分析方法では，処理木材中に含まれるイミダクロプリドは有機溶媒を用いて超音波抽出されたのち、HPLC-UV を用いて定量分される。イミダクロプリドを抽出する場合、まず、処理木材から切り出した試料から調製した木粉に、ジメチルスルホキシド（DMSO）を添加する。次に、所定量のエタノールを加え、超音波照射を行うことでイミダクロプリドが抽出される。抽出されたイミダクロプリドは、高速液体クロマトグラフ（HPLC）を用いて定量分析される。

木粉に DMSO を添加する目的は、木粉（木材）を膨潤させることにあるようだが、木材中に含まれる木材保存剤有効成分を抽出する際の効果についての報告は見当たらない。すでに、3.1、3.2 の検討でも明らかなように、木材を膨潤させるという目的の処理を実施しなくとも、有効成分を回収できることが明らかとなっている。

木粉を除去する方法として、吸引ろ過と木粉洗浄が用いられているが、定容を行う前に、いったん減圧濃縮する工程が含まれており、さらに、煩雑である。

そこで本検討では、まず、UV 検出を用いた超高速液体クロマトグラフ（UHPLC-UV）によるイミダクロプリドのた分析方法について検討した。次に、UHPLC-UV を用い，イミダクロプリドの抽出方法およびろ過方法の簡便化について検討した。

3.3.2　実験方法

(1)UHPLC-UV 分析条件の検討

HPLC-UV で用いられている条件を参考に UHPLC-ELS 分析条件を検討した。UHPLC-ELS は AQUITY UPLC H-class システム（Waters 社製）を用いた。カラムは ODS 系カラムである Inertsil ODS3（粒子径：2.0 μm，内径 2.1 ㎜×100 ㎜、GL サイエンス）を用い、移動相 A としてアセトニトリル：蒸留水：酢酸アンモニウム緩衝液（pH3.5、100mM）＝20：70：10、移動相 B としてアセトニトリル：酢酸アンモニウム緩衝液（同上）＝90：10 を用い、表に示すグラジエント条件で送液した。カラムオーブンの温度を 40℃とし、試料を導入量は 2.5μL とした。検出はフォトダイオードアレイ検出器を用いて行い、検出波長は 270nm とした。

(2)抽出溶媒の検討

カラマツ心材をカッターミル（IKA 社製）で粉砕し、目開き 2 ㎜のメッシュを通過した木粉を調製した。イミダクロプリドを含む木材保存剤としてニッサンクリーン CI（CI、兼松日産農林）を用いた。CI をジクロロメタンで希釈し、木粉添加用の作業液を調製した。作

業液は 1g の木粉に 1mL 添加することで、K4 レベルの処理木粉が得られる濃度に調製した。カラマツ心材木粉 1g を 30mL 容のサンプル瓶に入れ、CI の作業液を 1mL 添加し、スクリューキャップをした後、室温下で養生した。養生後、キャップを外し室温で 2 日間、60℃のオーブンで 2 日間乾燥したものを処理木粉とした。作業液中の CI を定量するため、木粉を含まないサンプル瓶に 1mL の作業液を入れたものも同様の処理を行った。

表 3.3.2-1　グラジエント条件

時間（min）	移動相 A(%)	移動相 B(%)	流速 mL/min
0.0	100	0	0.5
3.5	100	0	0.5
5.5	0	100	0.5
9.0	0	100	0.5
11.0	100	0	0.5
18.0	100	0	0.5

抽出溶媒には、アセトニトリル、メタノールまたはジクロロメタンを用い、1g の木粉に対し、それぞれ 20mL 用いた。抽出方法は超音波照射を用いた。抽出後の溶媒から木粉を除去する方法として、製材の JAS に記載されている吸引濾過またはシリンジフィルター（孔径 0.45μm、φ30 ㎜トムシック社製）による簡易ろ過を行ったものを抽出溶液とした。それぞれのろ過方法を図 3.1.2-1 に示す。作業液のみを添加したサンプル瓶にはアセトニトリルを加え、これを試料溶液とした。各抽出溶液および試料溶液は減圧濃縮後、移動相 A に溶解し、シリンジフィルター（孔径 0.20μm、φ13 ㎜、ADVANTEC 社製）でろ過した後、UHPLC-UV 分析に供した。

試料溶液に含まれる木材成分を除去する方法として、抽出溶液に対し分散型固相抽出を実施した。分散型固相抽出には、1200mg の塩化マグネシウム、400mg の PSA があらかじめ封入されている 15mL のスピッツバイアル（分散型固相抽出キット、アジレント社製）を用いた。抽出溶液 6mL をスピッツバイアルに入れ蓋をした後、30 秒間激しく上下に振とうした。1 時間静置後キャップを外し、上澄みを採取し、シリンジフィルターでろ過した。この溶液のうち 1mL を減圧濃縮し、移動相 A に再溶解したものをシリンジフィルター（孔径 0.20μm、φ13 ㎜、ADVANTEC 社製）でろ過した後、UHPLC-UV 分析に供した。

回収率は各抽出試料と試料溶液中に含まれるイミダクロプリドの量から下記の式により算出した。回収率は各樹種毎（辺心材毎）、各抽出方法毎、繰り返し 3 回の平均値として求めた。

回収率（%）＝

［抽出試料中の全イミクダロプリド量］／［試料溶液中の全イミダクロプリド量］×100

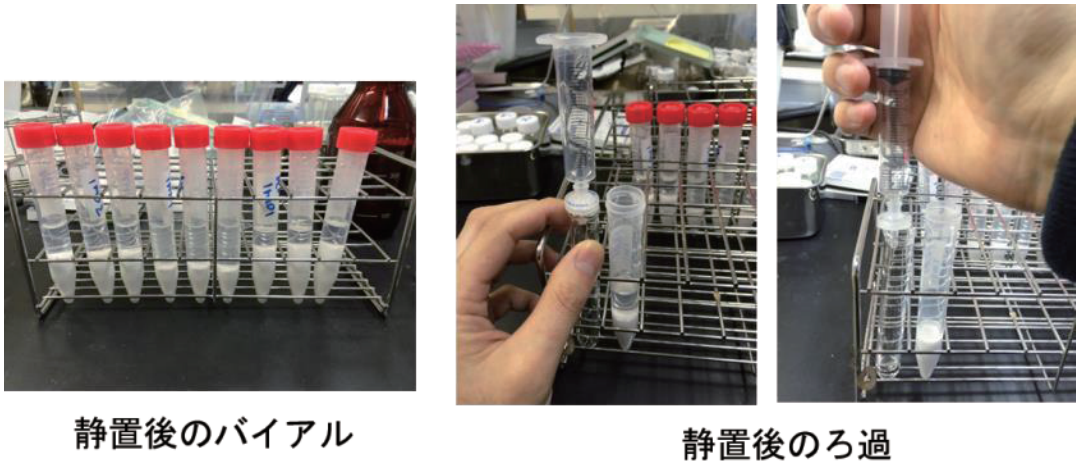

図 3.3.2-1　分散型固相抽出の操作

(3) 複数の樹種を用いた回収率の評価

スギ、カラマツ、トドマツ、ヒノキの心材、辺材を用い、それぞれカッターミル（IKA 社製）で粉砕し、目開き 2 ㎜のメッシュを通過した木粉を調製した。(2)と同様の方法で処理木粉を調製した。また、K2 レベルの処理木粉が得られる濃度に調製した作業液を用いた処理木粉も調製した。作業液中の CI を定量するため作業液のみを添加したサンプル瓶についても(2)と同様に調製した。

処理木粉の抽出は抽出溶媒にアセトニトリル 20mL 用い、超音波照射（2 時間）により行った。抽出後の溶媒から木粉を除去する方法として、(2)に示した簡易ろ過を用い、抽出溶液を調製した。イミダクロプリドと同時に抽出される木材成分が UHPLC-UV 分析に影響するかどうかを確認するため無処理木粉の抽出溶液も同様の方法で調製した。作業液のみを添加したサンプル瓶にはアセトニトリル 20mL を加え、これを試料溶液とした。各抽出溶液および試料溶液は減圧濃縮後、移動相 A に溶解し、シリンジフィルター（孔径 0.20μm、φ13 ㎜、ADVANTEC 社製）でろ過した後、UHPLC-UV 分析に供した。回収率は各抽出試料と試料溶液中に含まれるイミダクロプリドの量から(2)に示した式により算出し、各樹種毎（辺心材毎）、各濃度レベル毎、繰り返し 3 回の平均値として求めた。

移動相 A とは異なる溶媒を用いて再溶解した試料として、アセトニトリル：蒸留水：酢酸アンモニウム緩衝液（pH3.5、100mM）＝50：50：10 または移動相 B に再溶解し、シリンジフィルター（孔径 0.20μm、φ13 ㎜、ADVANTEC 社製）でろ過した後、UHPLC-UV 分析に供した。

3.3.3 結果と考察

(1) UHPLC-UV 分析条件の検討

製材の JAS で用いられている HPLC－UV で用いられている分析条件は移動相に含まれる有機溶媒比率が高いためイミダクロプリドがカラム担体にほとんど保持されない。含まれる他の成分とピークが重なってしまう。製材の JAS で用いられている HPLC－UV で用いられている分析条件は移動相に含まれる有機溶媒比率が高いためイミダクロプリドがカラム担体にほとんど保持されない。含まれる他の成分とピークが重なってしまう。そこで，Baskaran らの報告[5)]を参考に，有機溶媒比率を低く設定した移動相を用いることとした。なお，有機溶媒が低いため，グラジエント分析を用いることとした。グラジエントプログラム終了後カラムの再平衡化に 7 分程度かかることが確認されたことから，１サンプルの分析時間を 18 分に設定することにし，以降の分析に用いた。

(2)抽出溶媒の検討

抽出後のろ過方法を，カートリッジフィルターを用いた簡易ろ過に置き換えた上で、定量分析を高精度に実施するためには、溶媒量を正確にコントロールする必要がある。前述のように、製材の JAS に規定されたイミダクロプリドの抽出方法では、まず、木粉に少量の DMSO を加え、その後、所定量のエタノールを加えて抽出することになっている。異なる複数の溶媒を混合した場合、混合溶媒の体積は混合した溶媒の体積の総和とはならないことが多い。したがって、製材の JAS の方法では、抽出に使用する溶媒量を正確にコントロールすることができない。そこで、本検討ではイミダクロプリドの抽出溶媒を見直すため、アセトニトリル、メタノールおよびジクロロメタンを抽出溶媒とした場合の回収率を調べた。

まず，これらの溶媒でイミダクロプリドと同時に抽出される木材成分が、UHPLC-UV 分析に影響するかどうかを確認するため，無処理のカラマツ心材を抽出した抽出溶液を分析した。その結果、アセトニトリルとメタノールで抽出した場合、イミダクロプリドのピークに近い位置に比較的大きなピークを持つ成分が同時に抽出されることが分かった（図 3.3.3-1）。特に、メタノールの場合ピークはかなり大きいものであった。このピークはイミダクロプリドのピークと完全に重なるわけではないが、比較的大きく、テールにあたる部分がイミダクロプリドのピークと重なり面積の算出に影響すると考えられた。

そこで、このピークを除去する方法として、分散型固相抽出を試みた。その結果、分散型固相抽出を用いることでほぼ完全に除去できることが確認された（図 3.3.3-2）。一方、メタノールを用いた場合、d-SPE を用いても、完全に除去することができなかった。しかし、ある程度ピークの大きさを減じることができたことから、アセトニトリルおよびメタノールを用いて抽出する場合は d-SPE を行うこととした。

アセトニトリル、メタノールおよびジクロロメタンを用いた場合の回収率を表 3.3.3-1 に示す。アセトニトリルとメタノールを用いた場合の回収率はほぼ同じであり、ジクロロメタンを用いた場合はやや低い値を示した。また、前述のように、メタノールで抽出した場合、d-SPE により木材成分由来のピークを完全に除去することができなかったことから、アセトニトリルを抽出に用いることとした。

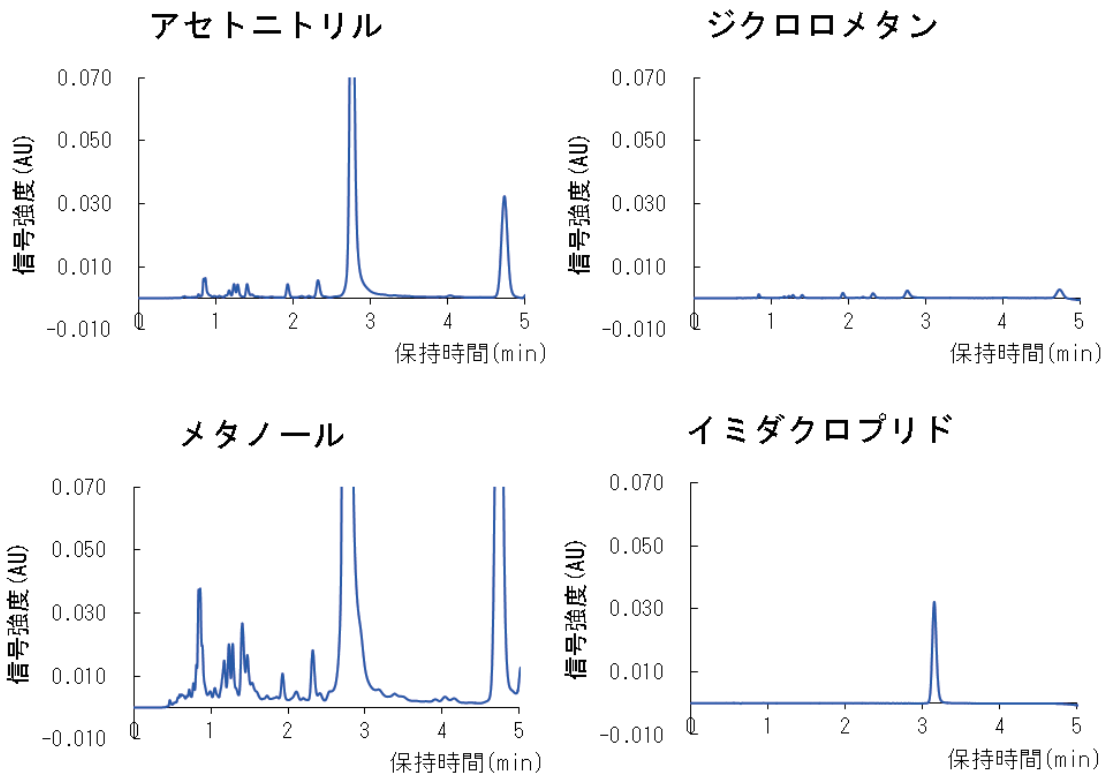

図 3.3.3-1　各抽出溶媒を用いた場合の UHPLC-UV クロマトグラム

表 3.3.3-1　イミダクロプリドの添加回収試験（カラマツ心材）

	回収率(%)		備　考
アセトニトリル	95	0.9	
メタノール	95	2.4	
ジクロロメタン	92	3.1	d-SPE なし

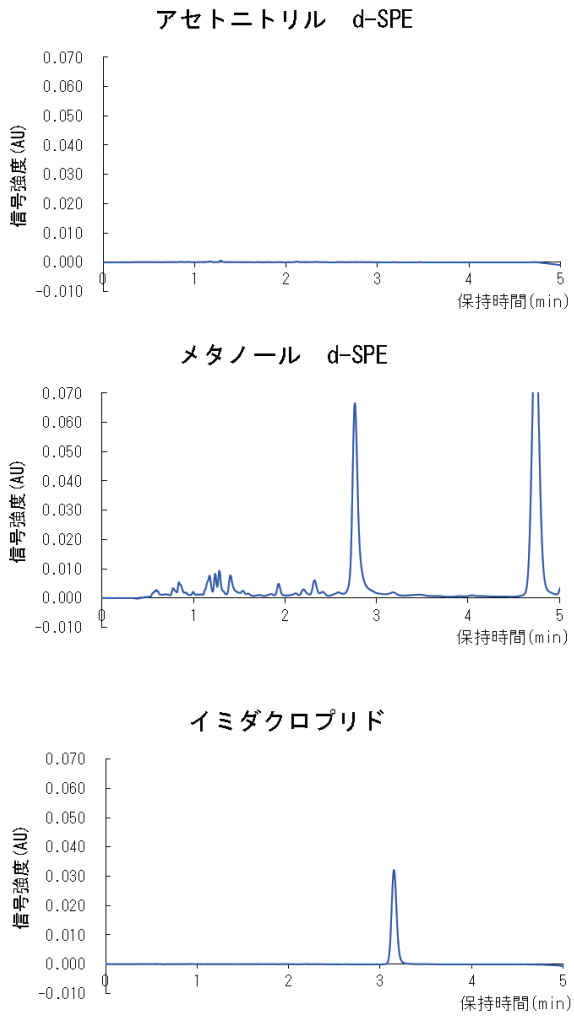

図 3.3.3-2　分散型固相抽出による精製後の UHPLC-UV クロマトグラム

(3) 複数の樹種を用いた回収率の評価

イミダクロプリドと同時に抽出される木材成分が UHPLC-UV 分析に影響するかどうかを確認するため、無処理のスギ、トドマツおよびヒノキの辺心材から調製した抽出溶液の UHPLC-UV 分析を実施した。その結果、いずれの樹種も心材の場合、イミダクロプリドの保持時間に相当する位置に微小な木材成分のピークが認められた(図 3.3.3-3)。そこで、d-SPE による精製を行ったところ、いずれの場合も除去できることが確認された。また，その他のピークも除去されるため、イミダクロプリドのピークの視認性が向上した(図 3.3.3-4)。以上の結果から、各心材木粉から抽出したイミダクロプリドの分析では d-SPE を適用することとした。また、辺材の場合イミダクロプリドの保持時間に相当する位置にピークは認められなかったが、ピークの視認性の向上が図れることから、辺材の場合も d-SPE を実施した。

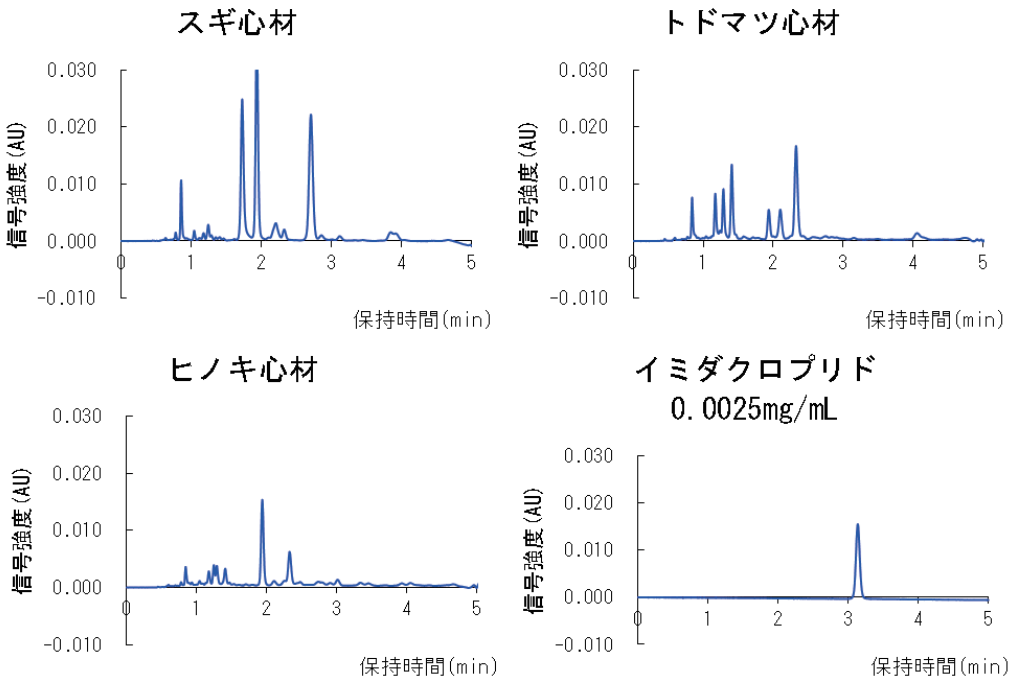

図 3.3.3-3　無処理木粉の抽出試料のクロマトグラム

K4 または K2 レベルの AZN を添加したスギ、カラマツ、トドマツおよびヒノキの辺心材からのイミダクロプリドの回収率を表 3.3.3-4 に示す。一部の場合を除き、90%以上の良好な回収率が得られた。K4 レベルのスギ心材、K2 レベルのスギ心材およびカラマツ心材の場合

90%以下であり、特に、K2 レベルのスギ心材では回収率が 68%であり、相対標準偏差が高くばらつきの大きな値であった。

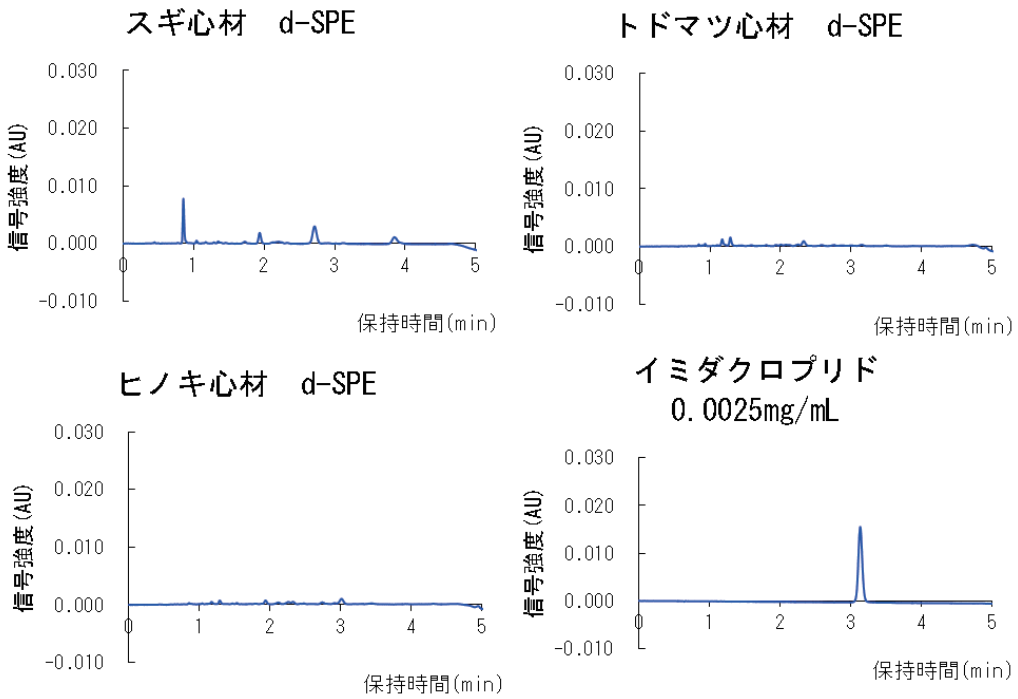

図 3.3.3-4　分散型固相抽出を実施した無処理木粉の抽出試料のクロマトグラム

一般に、試料を溶解する溶媒中の有機溶媒比率が移動相よりも高くなると、ピークが変形し正確な定量分析ができなくなるため、移動相に再溶解することが望ましいとされている。今回用いた UHPLC-UV ではアセトニトリル比率が 20%の移動相 A と 90%の移動相 B のグラジエントを用いている。イミダクロプリドのピークが出現するまでは移動相 A の比率が 100%の状態にあるため、移動相 A で再溶解することとした。しかし、移動相 A のアセトニトリルの比率は、抽出溶媒と比較して低く、そのため再溶解時に不溶物が生じた。この不溶物にイミダクロプリドが取り込まれ、再溶解後のろ過時に試料から除去されたため回収率が低くなったと考えられた。そこで、回収率を向上させるため、移動相 A よりもアセトニトリル比率が高い溶媒を用いて再溶解することを試みた。

アセトニトリル比率を上げた場合のピーク形状への影響を確認するため、アセトニトリル：蒸留水：酢酸アンモニウム緩衝液（pH3.5、100mM）＝50：50：10 または移動相 B に溶解したイミダクロプリドを UHPLC-UV 分析し、移動相 A に溶解した場合と比較した。アセトニトリル比率が 50%に上がった場合、ピーク幅が若干広がるもののピーク形状はほとんど変

化しなかった（図 3.3.3-5）。しかし、アセトニトリル比率が 90%になると、ピークが大幅に変形した。この結果から、移動相 A よりもアセトニトリル比率が高い溶媒として、アセトニトリル：蒸留水：酢酸アンモニウム緩衝液（pH3.5、100mM）＝50：50：10 を用いることとした。

K4 レベルのスギ心材、K2 レベルのスギ心材およびカラマツ心材について、再溶解にアセトニトリル:蒸留水:酢酸アンモニウム緩衝液(pH3.5、100mM)＝50:50:10 を用いた UHPLC-UV 分析を行い，回収率を求めた。その結果、良好な回収率が得られることが確認された(表 3.3.3-3)。

表 3.3.3-2　イミダクロプリドの回収率

濃度	樹種	部位	回収率*	
K4	スギ	辺材	96	(0.5)
		心材	86	(6.1)
	カラマツ	辺材	97	(1.0)
		心材	95	(2.3)
	トドマツ	辺材	98	(0.2)
		心材	95	(0.2)
	ヒノキ	辺材	98	(0.2)
		心材	96	(0.7)
K2	スギ	辺材	96	(0.9)
		心材	68	(20.8)
	カラマツ	辺材	95	(4.0)
		心材	83	(6.7)
	トドマツ	辺材	98	(0.4)
		心材	97	(0.5)
	ヒノキ	辺材	92	(6.0)
		心材	96	(0.2)

*n=3 の平均値、（）内は相対標準偏差

3.3.4 まとめ

処理木材中に含まれるイミダクロプリドの抽出工程において、溶媒をアセトニトリルに変更することで，イミダクロプリドの抽出ろ過方法を簡易化することが可能となり、1 サンプルに必要な時間を 1/10 以下に短縮することが可能となった。イミダクロプリドと同時に

抽出される木材分析が分析に影響することが確認されたが、分散型固相抽出を用いた効率的な除去方法確立した。また、超高速液体クロマトグラフを用いた分析方法を確立し、機器分析に必要な時間をこれまでの 1/10 程度に短縮することが可能となった。

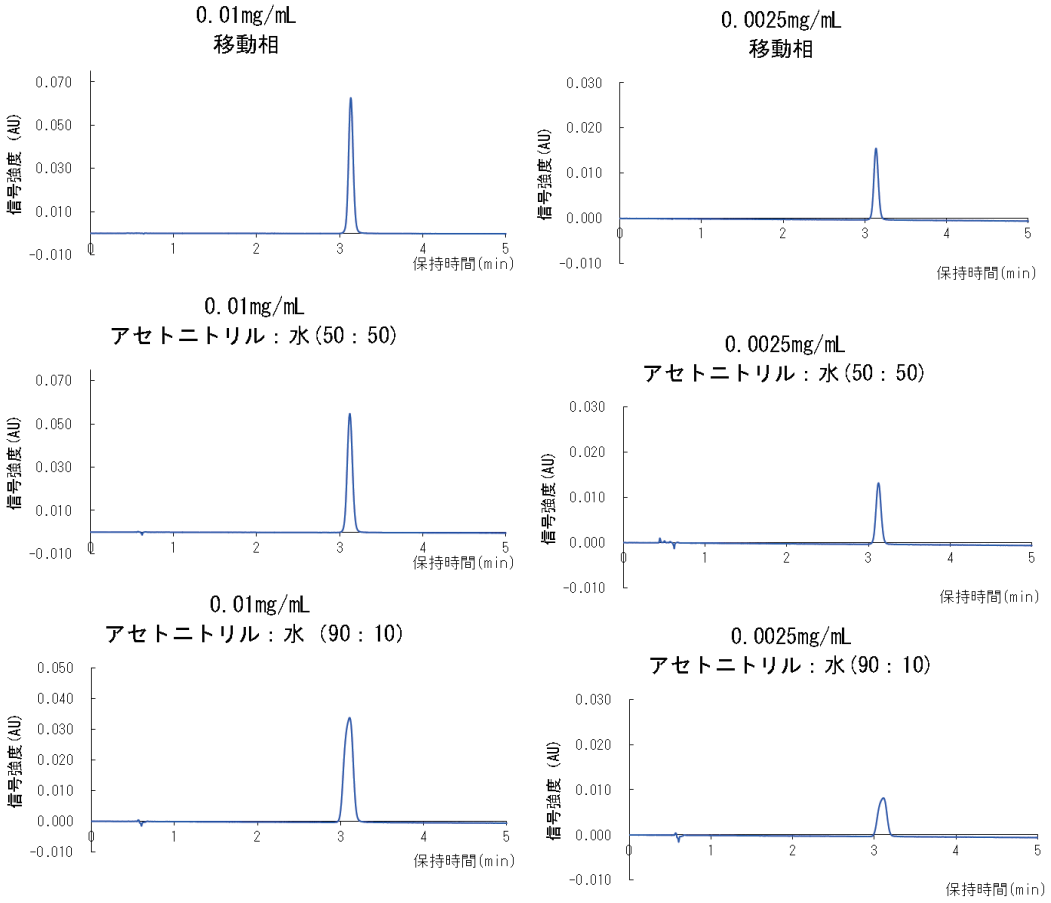

図 3.3.3-5　異なる試料溶媒でロードしたイミダクロプリドのクロマトグラム

表 3.3.3-3　イミダクロプリドの回収率

濃度	樹種	部位	回収率*	
K4	スギ	辺材	96	(0.5)
		心材	86	(6.1)
			97	**(0.5)**
	カラマツ	辺材	97	(1.0)
		心材	95	(2.3)
	トドマツ	辺材	98	(0.2)
		心材	95	(0.2)
	ヒノキ	辺材	98	(0.2)
		心材	96	(0.7)
K2	スギ	辺材	96	(0.9)
		心材	68	(20.8)
			98	**(0.6)**
	カラマツ	辺材	95	(4.0)
		心材	83	(6.7)
			99	**(0.5)**
	トドマツ	辺材	98	(0.4)
		心材	97	(0.5)
	ヒノキ	辺材	92	(6.0)
		心材	96	(0.2)

*n=3 の平均値、（）内は相対標準偏差（K4 レベルのスギ心材、K2 レベルのスギ心材およびカラマツ心材については試料溶媒の異なる結果を列記）

3.4 高精度化・迅速化された分析方法の提案と複数機関での実施

前項までの検討結果から、各有効成分について高精度化・迅速化された分析方法として以下の方法を提案し、加圧注入材から調製した共通の試料について複数の機関で分析を実施することとした。

3.4.1　第四級アンモニウム化合物（DDAC、DMPAP、BKC)の定量分析方法

①抽出工程

①-1 溶媒抽出

・処理材から調製した木粉 1g（または 0.5g）をスクリューキャップにより密栓できる 50 mL 容（または 30 mL 容）のサンプル瓶に入れ、ギ酸-メタノール（3：100、v/v）を 40 mL（または 20 mL）正確に加える。

・スクリューキャップキャップをしっかり締めた後，超音波洗浄器内に入れ，3 時間超音波照射することで抽出を行う。この際，水温が 40 度を超えないように管理する（例えば、30 または 45 分ごとに槽内の水を入れ替えるなど）。また、抽出中何度かサンプル瓶を激しく振り混ぜる。

①-2 ろ過

・サンプル瓶を激しく振り、5 分間静置する。

・上澄みをシリンジフィルターでろ過したものを抽出溶液とする。

②機器分析（分光光度法）

・製材の JAS に記載されている方法に準拠して実施する。

・抽出溶媒としてギ酸-メタノールを用いているため、緩衝液を混合することで pH 3.5 に調整可能であると考えられるため､水酸化ナトリウムを用いた pH 調整は省略してもよい。

3.4.2　トリアゾール化合物（シプロコナゾール、テブコナゾール）の定量分析

①抽出工程

・処理材から調製した木粉 1g をスクリューキャップにより密栓できる 30mL 容のサンプル瓶に入れ、メタノールを 20mL 正確に加える。

・超音波洗浄器内に入れ，1.5 時間超音波照射することで抽出を行う。この際，水温が 55 度を超えないように管理する（例えば、30 または 45 分ごとに槽内の水を入れ替えるなど）。また、抽出中何度かサンプル瓶を激しく振り混ぜる。

①-2 木粉のろ別

・超音波を照射したサンプル瓶の表面についた水をふき取る。キャップと容器の間に水が入っている可能性もあるので、キムワイプ等をすべり込ませて拭う。キャップは外さない。

・サンプル瓶の重さを測り記録*する。

・測定後、サンプル瓶を一回激しく振り、5 分間静置する。

・上澄みをシリンジフィルターでろ過したものを抽出溶液とする。

②固相抽出

②-1 固相抽出

・図 3.4.2-1 のスキームに従って実施する。

・1～3mL の範囲でロード量を変えてもよい。

・洗浄 2 には 1 N のアンモニア水とメタノールを容量比 80:20 で混合したものを用いる。

・溶出には市販の濃アンモニア水（濃度 28%程度）とメタノールを容量比 1：100 で混合したものを用いる。

②-2　再溶解

・溶出させた溶液を濃縮乾固する。

・濃縮後の再溶解は 1mL の移動相を用いて行う。ただし、濃縮容器に対し、十分な溶媒量でないと考えられる場合は、HPLC での定量可能範囲を出ない範囲で、1mL 以上の溶媒を用いて再溶解してかまわない。

・再溶解後、HPLC 用のフィルターでろ過し、分析を実施する。

③HPLC 分析

・HPLC 分析は ODS3（3μm、3 mm×150 mm）を用いて実施。

・移動相はアセトニトリル：蒸留水：リン酸緩衝液＊（100mM、pH2.1）＝60：30：10 を用いて実施。

・流速は 0.4～0.6mL/min ぐらいを目安に。

・検出波長は 221nm で実施。

・試料注入量は 1～10μL

＊りん酸(ナトリウム)緩衝溶液　（100mM pH=2.1）の調製方法

りん酸二水素ナトリウム二水和物(M.W.=156.01)‥50mmol(7.8g)

りん酸(85%,14.7mol/L)‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥50mmol(3.4mL)

を蒸留水に溶解し全量 1L とする。

（参考）　http://www.an.shimadzu.co.jp/hplc/support/lib/lctalk/38/38lab.htm

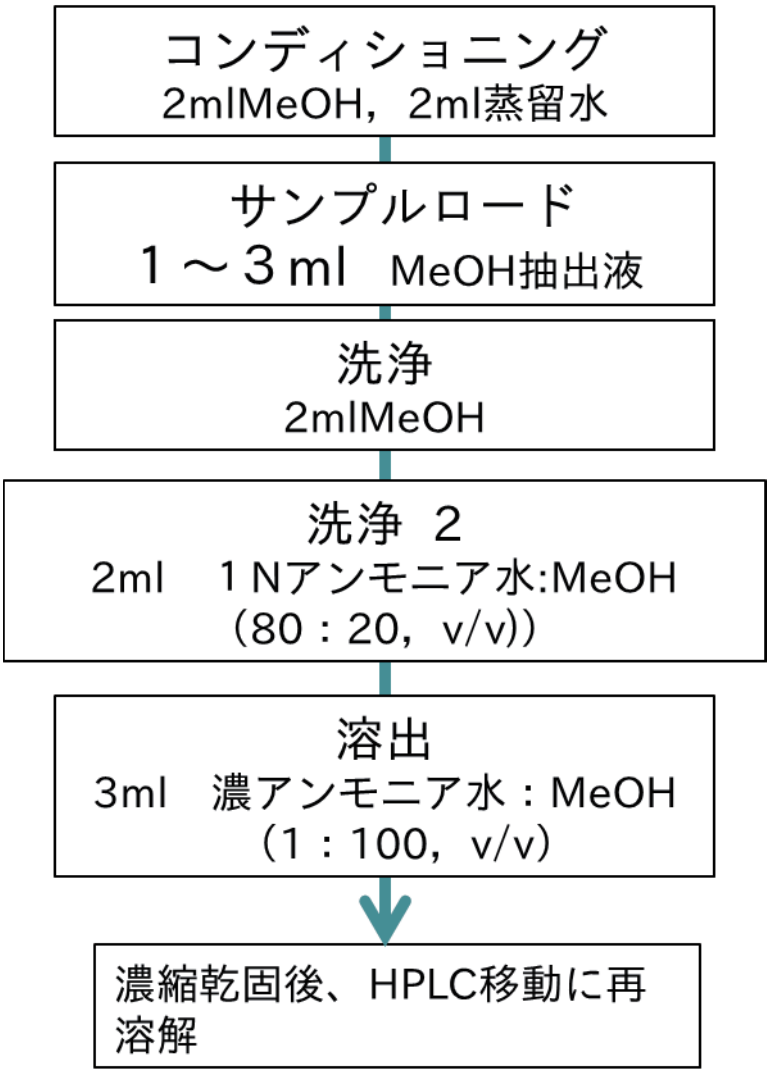

図 3.4.2-1　固相抽出の手順

3.4.3　イミダクロプリドの分析方法

①抽出工程

①-１溶媒抽出

・処理材から調製した木粉 1g をスクリューキャップにより密栓できる 30mL 容のサンプル瓶に入れ、アセトニトリルを 20mL 正確に加える。

・超音波洗浄器内に入れ，2 時間超音波照射することで抽出を行う。この際，水温が 40 度を超えないように管理する(例えば､30 または 45 分ごとに槽内の水を入れ替えるなど)。また、抽出中何度かサンプル瓶を激しく振り混ぜる。

①-2 木粉のろ別

・サンプル瓶を一回激しく振り、5 分間静置する。
・上澄みをシリンジフィルターでろ過したものを抽出溶液とする。

②分散型固相抽出（d-SPE）

・1200mg 硫酸マグネシウム、400mgPSA が入った 15mL のプラスチック製スピッツバイアルにアセトニトリル抽出溶液 6mL を加える。
・しっかりとキャップを締め、30 秒間激しく振り混ぜる。
・試験管ラック等で静置する。静置前、バイアルの底を軽く実験台等に当てて、担体が底に沈むのを促す。
・静置してから 1 時間後、上澄みを出来るだけ多く回収し、シリンジフィルターでろ過する。
・ろ液 1mL（濃縮装置の関係で少なければ、増やしても構わない）を減圧濃縮乾固し、1mL(変更可)の移動相（グラジエントの初期溶媒）に再溶解し、HPLC 用のフィルターでろ過後、分析を実施する。

③HPLC 分析

・HPLC 分析は ODS3（3μm、3 ㎜×150 ㎜）を用いて実施。
・移動相は(A)アセトニトリル：蒸留水：ギ酸アンモニウム緩衝液＊（100mM、pH3.5）＝20：70：10 と(B)アセトニトリル：ギ酸アンモニウム緩衝液＝90：10 を用いてグラジエントにて実施。
・流速は 0.4～0.6mL/min ぐらいを目安に。
・検出波長は 270nm で実施。
・試料注入量は 1 ～5μL ぐらい

＊ギ酸アンモニウム緩衝液＊（100mM、pH3.5）調製方法

ギ酸　59.5 mmol(2.74 g)
ギ酸アンモニウム　40.5mmol(2.55 g)
を蒸留水に溶解し全量 1L とする。

（参考）　http://www.an.shimadzu.co.jp/hplc/support/lib/lctalk/38/38lab.htm

3.5　複数の機関により実施した分析とその結果

加圧注入処理木材より調製した試料について，3.4 に示した分析方法を用い，認証機関や保存処理メーカーなどを含めた複数機関で試験を実施した。以下、各機関で行った分析と結果について記載する。

3.5　複数の機関により実施した分析とその結果

3.5.1　(公財)日本住宅・木材技術センター

[DDAC について]

(実験方法)

①試料の抽出

AAC 処理スギ材から調製した木粉試料のうち約 0.5g を 0.0001 の桁まで量り、30mL 容のスクリューキャップ付きガラスサンプル瓶に入れ、ホールピペットを用いてギ酸-メタノール（3:100=v/v）20mL を加えた後、超音波洗浄器（（株）エスエヌディ製、US-109）を用いて 3 時間抽出した。超音波照射は 1 時間ごとに水を入れ替え、水温が 40℃を超えないようにした。ガラスサンプル瓶は抽出中数回振り混ぜた。所定の抽出時間経過後、サンプル瓶を取り出して 5 分間静置した。20mL 容プラスチック製シリンジに PTFE 製メンブランシリンジフィルター（孔径 0.45μm、フィルター径 30mm）を取り付け、シリンジカートリッジの上から抽出液の一部を静かに注入し、シリンジバレルを押し出すことでろ過し、このろ液を試験溶液として分析に用いた。試料抽出条件の繰り返し数は 3 回とした。

②抽出液の定量分析

抽出液 1mL をマイクロピペットを用いて 100mL 容ガラスビーカーに量り採り、蒸留水を加えて約 40mL とした後 pH3.5 の緩衝液（0.1mol/L 酢酸水溶液：0.1mol/L 酢酸ナトリウム水溶液＝16：1（v/v））10mL を加えて攪拌し、pH3.5 となっていることを万能 pH 試験紙よって確認した。あらかじめオレンジⅡ溶液（オレンジⅡ 0.1%水溶液（w/v））3mL および塩化ナトリウム 5g を入れた 100mL 容ガラス分液ロートに前述の調整を行った抽出液を加え、さらにクロロホルム 20mL をホールピペットで加えた。振とう機を用いて約 5 分間振とうした後、約 30 分間静置してクロロホルム層と水層との分離を待った後、クロロホルム層の一部を採り、少量の硫酸ナトリウム（無水）を加えて脱水し、分光光度計（（株）島津製作所製、UVmini-1240）を用いて波長 485nm における吸光度を測定した。

③検量線の作成

DDAC 標準品（（株）ザイエンス提供、純度 19.9%）を蒸留水で希釈し、DDAC 濃度 0.1mg/ml の標準液を作製した。標準液 0、2、4ml をマイクロピペットを用いて 100mL 容ガラスビーカーに量り採り、試験溶液と同様の操作を行った。ただし標準液にはギ酸-メタノール

（3:100=v/v）1mL をそれぞれ加えた。オレンジⅡによる呈色操作後、試験溶液と同様に分光光度計を用いて波長 485nm における吸光度を測定して検量線を作成した。

④抽出液中の有効成分量の算出

検量線を用い、抽出液中の有効成分量を算出した。また、前述の試料木粉を用いて別途含水率（水分量/気乾重量）を求め、気乾木粉 1g 当たりおよび絶乾木粉 1g あたりの有効成分量についても算出した。

（結果）

定量分析によって得られた結果を表 3.5.1-1 に示す。

表 3.5.1-1　DDAC の分析結果

No.	DDAC 量		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉	絶乾木粉	気乾重量	含水率	絶乾重量	
	1g 当	1g 当	(g)	（%）	(g)	(mg)
AAC-1	13.65	14.49	0.5082	5.81	0.479	6.94
AAC-2	13.77	14.62	0.5071	5.81	0.478	6.98
AAC-3	14.12	14.99	0.5004	5.81	0.471	7.06
平均	13.84	14.70				
標準偏差	0.24	0.26				

[BKC について]

（実験方法）

①試料の抽出

BKC 処理スギ材から調製した木粉試料のうち約 0.5g を 0.0001 の桁まで量り、30mL 容のスクリューキャップ付きガラスサンプル瓶に入れ、ホールピペットを用いてギ酸-メタノール（3:100=v/v）20mL を加えた後、超音波洗浄器（（株）エスエヌディ製、US-109）を用いて 3 時間抽出した。超音波照射は 1 時間ごとに水を入れ替え、水温が 40℃を超えないようにした。ガラスサンプル瓶は抽出中数回振り混ぜた。所定の抽出時間経過後、サンプル瓶を取り出して 5 分間静置した。20mL 容プラスチック製シリンジに PTFE 製メンブランシリンジフィルター（孔径 0.45μm、フィルター径 30mm）を取り付け、シリンジカートリッジの上から抽出液の一部を静かに注入し、シリンジバレルを押し出すことでろ過し、このろ液を試験溶液として分析に用いた。試料抽出条件の繰り返し数は 3 回とした。

②抽出液の定量分析

抽出液 1mL をマイクロピペットを用いて 100mL 容ガラスビーカーに量り採り、蒸留水を加えて約 40mL とした後 pH3.5 の緩衝液（0.1mol/L 酢酸水溶液：0.1mol/L 酢酸ナトリウム水溶液＝16：1（v/v））10mL を加えて攪拌し、pH3.5 となっていることを万能 pH 試験紙

よって確認した。あらかじめオレンジⅡ溶液（オレンジⅡ 0.1%水溶液（w/v））3mL および塩化ナトリウム 5g を入れた 100mL 容ガラス分液ロートに前述の調整を行った抽出液を加え、さらにクロロホルム 20mL をホールピペットで加えた。振とう機を用いて約 5 分間振とうした後、約 30 分間静置してクロロホルム層と水層との分離を待った後、クロロホルム層の一部を採り、少量の硫酸ナトリウム（無水）を加えて脱水し、分光光度計（（株）島津製作所製、UVmini-1240）を用いて波長 485nm における吸光度を測定した。

③検量線の作成

BKC 標準品（Fulka 社製、純度 95%）を蒸留水で希釈し、BKC 濃度 0.1mg/ml の標準液を作製した。標準液 0、2、4ml をマイクロピペットを用いて 100mL 容ガラスビーカーに量り採り、試験溶液と同様の操作を行った。ただし標準液にはギ酸-メタノール（3:100=v/v）1mL をそれぞれ加えた。オレンジⅡによる呈色操作後、試験溶液と同様に分光光度計を用いて波長 485nm における吸光度を測定して検量線を作成した。

④抽出液中の有効成分量の算出

検量線を用い、抽出液中の有効成分量を算出した。また、前述の試料木粉を用いて別途含水率（水分量/気乾重量）を求め、気乾木粉 1g 当たりおよび絶乾木粉 1g あたりの有効成分量についても算出した。

（結果）

定量分析によって得られた結果を表 3.5.1-2 に示す。

表 3.5.1-2　BKC の分析結果

No.	BKC 量		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉 1g 当	絶乾木粉 1g 当	気乾重量 (g)	含水率 (%)	絶乾重量 (g)	(mg)
BKC-1	10.07	10.77	0.5083	6.47	0.475	5.12
BKC-2	10.52	11.25	0.5041	6.47	0.471	5.30
BKC-3	10.52	11.24	0.5057	6.47	0.473	5.32
平均	10.37	11.09				
標準偏差	0.26	0.28				

［シプロコナゾールについて（薬剤：CUAZ の場合）］

（実験方法）

①試料の抽出

CUAZ 処理スギ材から調製した木粉試料のうち約 1g を 0.0001 の桁まで量り、30mL 容のスクリューキャップ付きガラスサンプル瓶に入れ、ホールピペットを用いてメタノール 20mL を加えた後、超音波洗浄器（（株）エスエヌディ製、US-109）を用いて 1 時間半抽出した。超音波照射は途中 1 回水を入れ替え、水温が 55℃を超えないようにした。ガラスサンプル瓶は抽出中数回振り混ぜた。所定の抽出時間経過後、サンプル瓶を取り出して 5 分間静置した。20mL 容プラスチック製シリンジに PTFE 製メンブランシリンジフィルター(孔径 0.45μm、フィルター径 30mm）を取り付け、シリンジカートリッジの上から抽出液の一部を静かに注入し、シリンジバレルを押し出すことでろ過し、このろ液を試験溶液として分析に用いた。試料抽出条件の繰り返し数は 3 回とした。

②抽出液の定量分析

抽出液を、固相抽出カートリッジ（（株）日本ウォーターズ製、Oasis MCX 3cc.）を用いて表 3.5.1-3 の固相抽出を行い、溶出液をガラス試験管に受け、溶媒を置換するために溶出液を濃縮乾固した。濃縮乾固には吹付け式濃縮器（東京理化器械（株）製、MG-2200 および S-024）を用い、アルミプレート加温 38℃、エアーポンプ（安永エアポンプ（株）製、AP-60F）により風量 2～4L/min 程度で空気を 2 時間吹き付けて、溶出液約 3mL を乾固させた。乾固後、分析に用いる移動相比率の溶媒を試験管に加えて再溶解させ、試験溶液とした。試験溶液の濃度は抽出時と同じとなるように操作した。試験溶液は PTFE 製メンブランシリンジフィルター（孔径 0.20μm、フィルター径 13mm）を用いてろ過し、高速液体クロマトグラフ（（株）島津製作所製、Prominence；検出器 SPD-20A）によって抽出液中のシプロコナゾールのピーク面積を測定した。高速液体クロマトグラフ（HPLC）の分析条件は表 3.5.1-4 とした。

表 3.5.1-3　シプロコナゾールの固相抽出手順

工程	内容
コンディショニング	2mL メタノール、2mL 蒸留水
サンプルロード	2mL メタノール抽出液
洗浄 1	2mL メタノール
洗浄 2	2mL　25%アンモニア水：蒸留水：メタノール＝5：75：20（v/v/v）
溶出	3mL　25%アンモニア水：メタノール＝1：100（v/v）

表 3.5.1-4　シプロコナゾールの HPLC 分析条件

項目	条件
カラム	ODS 系カラム（ジーエルサイエンス（株）製、Inertsil ODS-3） I.D.：3.0mm、L：150mm、粒子径 3μm
移動相	アセトニトリル：蒸留水＝60：40（V/V）
移動相流速	0.4mL/min
カラム温度	40℃
測定波長	221nm
注入量	5μL

③検量線の作成

シプロコナゾール標準品（兼松日産農林（株）提供、純度 94.5%）を分析移動相と同じ比率の溶媒で希釈し、シプロコナゾール濃度 0.001～0.05mg/ml の標準液を作製した。標準液は PTFE 製メンブランシリンジフィルター（孔径 0.20μm、フィルター径 13mm）を用いてろ過し、試料溶液と同条件で高速液体クロマトグラフを用いて標準液中のシプロコナゾールのピーク面積を測定し、検量線を作成した。

④抽出液中の有効成分量の算出

検量線を用い、抽出液中の有効成分量を算出した。また、前述の試料木粉を用いて別途含水率（水分量/気乾重量）を求め、気乾木粉 1g 当たりおよび絶乾木粉 1g あたりの有効成分量についても算出した。

(結果)

表 3.5.1-5　シプロコナゾールの分析結果（CUAZ）

No.	シプロコナゾール量		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉 1g 当	絶乾木粉 1g 当	気乾重量 (g)	含水率 (%)	絶乾重量 (g)	(mg)
CUAZ-1	0.04	0.05	1.0150	7.02	0.944	0.04
CUAZ-2	0.05	0.05	1.0117	7.02	0.941	0.05
CUAZ-3	0.05	0.05	1.0067	7.02	0.936	0.05
平均	0.04	0.05				
標準偏差	0.00	0.00				

［シプロコナゾールについて（薬剤：AZN の場合）］

（実験方法）

①試料の抽出

AZN 処理スギ材から調製した木粉試料のうち約 1g を 0.0001 の桁まで量り、30mL 容のスクリューキャップ付きガラスサンプル瓶に入れ、ホールピペットを用いてメタノール 20mL を加えた後、超音波洗浄器（（株）エスエヌディ製、US-109）を用いて 1 時間半抽出した。超音波照射は途中 1 回水を入れ替え、水温が 55℃を超えないようにした。ガラスサンプル瓶は抽出中数回振り混ぜた。所定の抽出時間経過後、サンプル瓶を取り出して 5 分間静置した。20mL 容プラスチック製シリンジに PTFE 製メンブランシリンジフィルター(孔径 0.45μm、フィルター径 30mm）を取り付け、シリンジカートリッジの上から抽出液の一部を静かに注入し、シリンジバレルを押し出すことでろ過し、このろ液を試験溶液として分析に用いた。試料抽出条件の繰り返し数は 3 回とした。

②抽出液の定量分析

抽出液を、固相抽出カートリッジ（（株）日本ウォーターズ製、Oasis MCX 3cc.）を用いて表 3.5.1-3 の固相抽出を行い、溶出液をガラス試験管に受け、溶媒を置換するために溶出液を濃縮乾固した。濃縮乾固には吹付け式濃縮器（東京理化器械（株）製、MG-2200 および S-024）を用い、アルミプレート加温 38℃、エアーポンプ（安永エアポンプ（株）製、AP-60F）により風量 2～4 L /min 程度で空気を 2 時間吹き付けて、溶出液約 3mL を乾固させた。乾固後、分析に用いる移動相比率の溶媒を試験管に加えて再溶解させ、試験溶液とした。試験溶液の濃度は抽出時と同じとなるように操作した。試験溶液は PTFE 製メンブランシリンジフィルター（孔径 0.20μm、フィルター径 13mm）を用いてろ過し、高速液体クロマトグラフ（（株）島津製作所製、Prominence；検出器 SPD-20A）によって抽出液中のシプロコナゾールのピーク面積を測定した。高速液体クロマトグラフ（HPLC）の分析条件は表 3.5.1-4 とした。

③検量線の作成

シプロコナゾール標準品（兼松日産農林（株）提供、純度 94.5%）を分析移動相と同じ比率の溶媒で希釈し、シプロコナゾール濃度 0.005～0.05mg/ml の標準液を作製した。標準液は PTFE 製メンブランシリンジフィルター（孔径 0.20μm、フィルター径 13mm）を用いてろ過し、試料溶液と同条件で高速液体クロマトグラフを用いて標準液中のシプロコナゾールのピーク面積を測定し、検量線を作成した。

④抽出液中の有効成分量の算出

検量線を用い、抽出液中の有効成分量を算出した。また、前述の試料木粉を用いて別途含水率（水分量/気乾重量）を求め、気乾木粉 1g 当たりおよび絶乾木粉 1g あたりの有効成分量についても算出した。

（結果）

表 3.5.1-6　シプロコナゾールの分析結果（AZN）

No.	シプロコナゾール量		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉 1g 当	絶乾木粉 1g 当	気乾重量 (g)	含水率 (%)	絶乾重量 (g)	(mg)
AZN-1	0.31	0.33	1.0156	6.67	0.948	0.32
AZN-2	0.30	0.32	1.0222	6.67	0.954	0.31
AZN-3	0.31	0.34	1.0218	6.67	0.954	0.32
平均	0.31	0.33				
標準偏差	0.01	0.01				

［イミダクロプリドについて］

（実験方法）

①試料の抽出

AZN 処理スギ材から調製した木粉試料のうち約 1g を 0.0001 の桁まで量り、30mL 容のスクリューキャップ付きガラスサンプル瓶に入れ、ホールピペットを用いてアセトニトリル 20mL を加えた後、超音波洗浄器（（株）エスエヌディ製、US-109）を用いて 2 時間抽出した。超音波照射は 1 時間ごとに水を入れ替え、水温が 40℃を超えないようにした。ガラスサンプル瓶は抽出中数回振り混ぜた。所定の抽出時間経過後、サンプル瓶を取り出して 5 分間静置した。20mL 容プラスチック製シリンジに PTFE 製メンブランシリンジフィルター（孔径 0.45μm、フィルター径 30mm）を取り付け、シリンジカートリッジの上から抽出液の一部を静かに注入し、シリンジバレルを押し出すことでろ過し、このろ液を試験溶液として分析に用いた。試料抽出条件の繰り返し数は 3 回とした。

②抽出液の定量分析

抽出液を、分散型固相抽出用バイアル（アジレント社製 15mL）を用いて表 3.5.1-7 の固相抽出を行い、回収した試験液をガラス試験管に採り、溶媒を置換するために試験液を濃縮乾固した。濃縮乾固には吹付け式濃縮器（東京理化器械（株）製、MG-2200 および S-024）を用い、アルミプレート加温 38℃、エアーポンプ（安永エアポンプ（株）製、AP-60F）により風量 2～4 L /min 程度で空気を 1 時間半吹き付けて、試験液約 1.5mL を乾固させた。乾固後、分析に用いる移動相比率の溶媒を試験管に加えて再溶解させ、試験溶液とした。試験溶液の濃度は抽出時と同じとなるように操作した。試験溶液は PTFE 製メンブランシリンジフィルター（孔径 0.20μm、フィルター径 13mm）を用いてろ過し、高速液体クロマトグラフ（（株）島津製作所製、Prominence；検出器 SPD-20A）によって抽出液中のイミ

ダクロプリドのピーク面積を測定した。高速液体クロマトグラフ（HPLC）の分析条件は表3.5.1-8とした。

表3.5.1-7　イミダクロプリドの分散型固相抽出手順

工程	内容および時間
試験液の注入	約6mLアセトニトリル抽出液
振とう	30秒（試験管ミキサーを使用）
静置	1時間
試験液の回収	上澄みを任意の量回収（1～2mL程度）

表3.5.1-8　イミダクロプリドのHPLC分析条件

項目	条件
カラム	ODS系カラム（ジーエルサイエンス（株）製、Inertsil ODS-3） I.D.：3.0mm、L：150mm、粒子径3μm
移動相	アセトニトリル：蒸留水＝20：80（V/V） ＜グラジエントによる分析＞ 0～13分　アセトニトリル：蒸留水＝20：80（V/V） 13～35分　アセトニトリル：蒸留水＝90：10（V/V） 35～55分　アセトニトリル：蒸留水＝20：80（V/V）
移動相流速	0.4mL/min
カラム温度	40℃
測定波長	270nm
注入量	2μL

③検量線の作成

イミダクロプリド標準品（和光純薬（株）製、純度98%）を分析移動相と同じ比率の溶媒で希釈し、イミダクロプリド濃度0.001～0.05mg/mlの標準液を作製した。標準液はPTFE製メンブランシリンジフィルター（孔径0.20μm、フィルター径13mm）を用いてろ過し、試料溶液と同条件で高速液体クロマトグラフを用いて標準液中のイミダクロプリドのピーク面積を測定し、検量線を作成した。

④抽出液中の有効成分量の算出

検量線を用い、抽出液中の有効成分量を算出した。また、前述の試料木粉を用いて別途含水率（水分量/気乾重量）を求め、気乾木粉 1g 当たりおよび絶乾木粉 1g あたりの有効成分量についても算出した。

（結果）

表 3.5.1-9　イミダクロプリドの分析結果（AZN）

No.	イミダクロプリド量		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉 1g 当	絶乾木粉 1g 当	気乾重量 (g)	含水率 (%)	絶乾重量 (g)	(mg)
AZN-1	0.07	0.07	1.0262	6.67	0.958	0.07
AZN-2	0.08	0.08	1.0321	6.67	0.963	0.08
AZN-3	0.08	0.08	1.0213	6.67	0.953	0.08
平均	0.07	0.08				
標準偏差	0.01	0.01				

[改良された分析方法の評価]

今回実施した分析方法について、全体および有効成分ごとに所感を列記する。

[全体について]

・超音波洗浄機による抽出、およびシリンジフィルターを用いた簡易ろ過による抽出液ろ過方法は簡便であった。また、一度に多量の試料を抽出・ろ過することができ、効率的であった。

[DDAC、BKC について]

・ギ酸－メタノール抽出を行うと、試験溶液を 1mol/L 水酸化ナトリウムを用いて pH を調整しなくても pH はおおよそ 3.5 となった。pH 調整の時間を短縮することができ、効率的であった。

[シプロコナゾールについて]

・固相抽出カートリッジが高価であること、固相抽出工程がやや煩雑であるという課題はあるが、シプロコナゾールを始めとするアゾール系の有効成分の固相抽出法は確立されつつあると感じる。

[イミダクロプリドについて]

・今回の分散型固相抽出法を初めて行ったが、操作は簡便であった。抽出溶媒や樹種の条件を変えて回収率を確認すれば、新たな分析方法として十分有効であると感じた。

・HPLC 分析条件についても有効と感じられたが、今後もデータの収集をしていく必要があると思う。

・HPLC 分析移動相条件が有機溶媒よりも水が多い比率のため、試料液を移動相に再溶解する際に析出（白濁）が生じる。分析値にどの程度影響しているのか確認する必要がある。分析値に影響のない範囲で有機溶媒比率を高めた溶媒に再溶解して HPLC 分析を行うことも有効ではないかと思う。

3.5.2　大日本木材防腐株式会社

[DDAC について]

（実験方法）

AAC 処理スギ材から調製した木粉試料のうち 1g を 50ml 容のバイアル瓶に採取し、ギ酸－メタノール(3:100 v/v)を 40ml 正確に加えた。これを超音波洗浄器(㈱島津製作所製 SUS-304)を用いて周波数 26kHz にて 3 時間の抽出を行った。

抽出液を 10ml 容のシリンジに移し、孔径 0.45μｍのシリンジフィルターでろ過したものを試料液とした。

定量分析は、「製材の日本農林規格（平成 19 年)」別記の中の、3.試験方法（3）吸収量試験　（ア）第四級アンモニウム化合物系保存処理薬剤で処理されたものとして明記されている、通称「オレンジⅡ法」に準拠して実施した。変更点として、抽出溶媒をギ酸－メタノールとしているため、水酸化ナトリウム水溶液による pH の調整は省略した。機器分析は、分光光度計 UVmini-1240（㈱島津製作所製）を使用した。

（結果）

定量分析によって得られた結果を表 3.5.2-1 に示す。

表 3.5.2-1　AAC 定量分析結果

No.	DDAC量		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉	絶乾木粉	気乾重量	含水率	絶乾重量	
	1g当	1g当	(g)	(%)	(g)	(mg)
AAC-1	15.35	16.25	1.0945	5.88	1.034	16.80
AAC-2	15.52	16.43	1.1052	5.88	1.044	17.15
AAC-3	16.03	16.97	1.0932	5.88	1.033	17.53
平均	15.63	16.55				
標準偏差	0.29	0.31				

[BKC について]

（実験方法）

ACQ 処理スギ材を用いた BKC の測定方法は、前述の AAC の項と同一の方法で行った。

（結果）

定量分析によって得られた結果を表 3.5.2-2 に示す。

表 3.5.2-2　BKC 定量分析結果

No.	BKC量		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉	絶乾木粉	気乾重量	含水率	絶乾重量	
	1g当	1g当	(g)	(%)	(g)	(mg)
BKC-1	10.83	11.67	1.0635	7.77	0.987	11.51
BKC-2	10.72	11.55	1.0883	7.77	1.010	11.67
BKC-3	11.37	12.25	1.0697	7.77	0.993	12.16
平均	10.97	11.82				
標準偏差	0.28	0.31				

［シプロコナゾールについて（薬剤：CUAZ の場合)］

（実験方法）

CUAZ 処理スギ材から調製した木粉試料のうち 1g を 50ml 容のバイアル瓶に採取し、メタノール 20ml を正確に加えた。これを超音波洗浄器を用いて 90 分間の抽出を行った。

抽出液を 10ml 容のシリンジに移し、孔径 0.45μｍのシリンジフィルターでろ過した。ろ液 3ml を 3.4.2 項における固相抽出法を用いて操作し、得られた固相抽出液は、20ml 容のナス型フラスコにとりロータリーエバポレーターで蒸発・乾固させた。これをシプロコナゾールの測定に用いる移動相 1ml で溶解したものを試料液とした。

定量分析は、高速液体クロマトグラフ法（以下 HPLC 法）で実施した。使用した機器および条件を表 3.5.2-3 に示す。

検量線の作成については、「製材の日本農林規格（平成 19 年)」別記の中の、3.試験方法 (3) 吸収量試験　（オ）銅・アゾール化合物系保存処理薬剤で処理されたものとして明記されている HPLC 法に準拠して実施した。

（結果）

定量分析によって得られた結果を表 3.5.2-4 に示す。

表 3.5.2-3　シプロコナゾール HPLC 測定条件

HPLC 機器	日本分光㈱製　Gulliver シリーズ
検出器	UV
波長	221 nm
カラム	Inertsil ODS3 カラム　3μm, φ3 mm×L150 mm
カラム温度	40℃
移動相	アセトニトリル：水：100mM リン酸緩衝液＝6：3：1
流量	0.3ml／min
注入量	5μL

表 3.5.2-4　シプロコナゾール定量結果（CUAZ）

No.	シプロコナゾール量		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉	絶乾木粉	気乾重量	含水率	絶乾重量	
	1g当	1g当	(g)	(%)	(g)	(mg)
CUAZ-1	0.047	0.050	1.0613	7.86	0.984	0.050
CUAZ-2	0.047	0.051	1.0964	7.86	1.016	0.052
CUAZ-3	0.049	0.053	1.0746	7.86	0.996	0.053
平均	0.048	0.051				
標準偏差	0.001	0.001				

［シプロコナゾールについて（薬剤：AZN の場合)］

（実験方法）

AZN 処理スギ材を用いたシプロコナゾールの測定方法は、前述の CUAZ 項と同一の方法で行った。

変更点として、固相抽出に用いるろ液の量を 1ml としている。

（結果）

定量分析によって得られた結果を表 3.5.2-5 に示す。

表 3.5.2-5　シプロコナゾール定量結果（AZN）

No.	シプロコナゾール量		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉	絶乾木粉	気乾重量	含水率	絶乾重量	
	1g当	1g当	(g)	(%)	(g)	(mg)
AZN-1	0.304	0.327	1.0793	7.87	1.001	0.328
AZN-2	0.289	0.312	1.0849	7.87	1.006	0.314
AZN-3	0.296	0.319	1.0619	7.87	0.984	0.314
平均	0.296	0.320				
標準偏差	0.006	0.006				

［イミダクロプリドについて］

（実験方法）

AZN 処理スギ材から調製した木粉試料のうち 1g を 50ml 容のバイアル瓶に採取し、アセトニトリル 20ml を正確に加えた。これを超音波洗浄器を用いて 120 分間の抽出を行った。

抽出液を 10ml 容のシリンジに移し、孔径 0.45μm のシリンジフィルターでろ過した。ろ液 6ml を分散型固相抽出用バイアル（アジレント社製　15ml）に採取し、30 秒以上の振とう－1 時間の静置を行い、得られた上澄み液を固相抽出液とした。

固相抽出液 1ml を 20ml 容のナス型フラスコにとり、ロータリーエバポレーターで蒸発・乾固させた。これを表 3.5.2-6 のイミダクロプリドの測定に用いる移動相 1ml で溶解したものを試料液とした。

定量分析は、高速液体クロマトグラフ法（以下 HPLC 法）で実施した。使用した機器および条件を表 3.5.2-6 に示す。

検量線の作成については、「製材の日本農林規格（平成 19 年)」別記の中の、3.試験方法 (3) 吸収量試験　(カ）アゾール・ネオニコチノイド化合物系保存処理薬剤で処理されたものとして明記されている HPLC 法に準拠して実施した。

（結果）

定量分析によって得られた結果を表 3.5.2-7 に示す。

表 3.5.2-6　イミダクロプリド HPLC 測定条件

HPLC 機器	日本分光㈱製　Gulliver シリーズ
検出器	UV
波長	270 nm
カラム	Inertsil ODS3 カラム　3μm, φ3 mm×L150 mm
カラム温度	40℃
移動相	(A) アセトニトリル：水：100mM リン酸緩衝液＝6：3：1 (B) アセトニトリル：100mM リン酸緩衝液＝9：1 ＜グラジエントによる分析＞ 0～13 min　：　A:B＝100：0 (V/V) 13～19 min　：　A:B＝100→0：0→100 (V/V) 19～40 min　：　A:B＝0：100 (V/V) 40～41 min　：　A:B＝0→100：100→0 (V/V) 41～60 min　：　A:B＝100：0
流量	0.3ml／min
注入量	5μL

表 3.5.2-7　イミダクロプリド定量結果（AZN）

No.	イミダクロプリド量			試料木粉			抽出液中
	気乾木粉	絶乾木粉		気乾重量	含水率	絶乾重量	
	1g当	1g当		(g)	(%)	(g)	(mg)
IMD-1	0.104	0.113		1.1112	7.96	1.029	0.116
IMD-2	0.102	0.110		1.0692	7.96	0.990	0.109
IMD-3	0.103	0.111		1.0869	7.96	1.007	0.112
平均	0.103	0.111					
標準偏差	0.001	0.001					

[改良された分析方法の評価]

(第四級アンモニウム塩 DDAC・BKC の測定)

- 従来の JAS 法では、球管冷却器付きのフラスコを用いて煮沸することで抽出するため、煮沸する設備，冷却器の数の制限から、一度に測定する数に制限があったが、本測定方法では多数の測定が可能になった。

（シプロコナゾールの測定）

・ 樹種からの抽出物の影響が除外され、分析精度の向上が目で見て（チャート上で）感じられた。

抽出時間が短くなったことで、分析が迅速化した。

3.5.3 兼松日産農林株式会社

[DDAC について]

（実験方法）

AAC 処理スギ材から調製した木粉試料のうち 1g を 50mL 容のサンプル瓶に入れ、ギ酸-メタノールを 40mL 加えた後、超音波洗浄器内で 3 時間超音波照射して抽出を行った。超音波照射した抽出溶液を、カートリッジフィルターを先端に装着した 30mL 容のシリンジに注ぎ入れ、シリンジバレルで押し出してろ過を行った。ろ過した抽出溶液は、サンプル瓶に入れて密栓し分析試料とした。分析試料は、分析を実施するまで冷蔵庫内で保管した。

分析試料を、「製材の日本農林規格」に記載の分光光度法に準拠し、濃度定量を行った。

分析試料の DDAC 濃度定量には、分析機器として㈱島津製作所製の分光光度計 UV-1800 を使用し、分析を実施した。

なお、繰返しは 3 回とした。

（結果）

定量分析によって得られた結果を表 3.5.3-1 に示す。

表 3.5.3-1 DDACの分析結果

No.	DDAC量		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉 1g当	絶乾木粉 1g当	気乾重量 (g)	含水率 (%)	絶乾重量 (g)	(mg)
AAC-1	15.85	16.86	1.0020	6.36	0.9421	15.88
AAC-2	16.00	17.01	1.0028	6.36	0.9429	16.04
AAC-3	16.26	17.29	1.0014	6.36	0.9416	16.28
平均	16.03	17.05				
標準偏差	0.17	0.18				

[BKC について]

（実験方法）

ACQ 処理スギ材から調製した木粉試料のうち 1g を 50mL 容のサンプル瓶に入れ、ギ酸-メタノールを 40mL 加えた後、超音波洗浄器内で 3 時間超音波照射して抽出を行った。超音波照射した抽出溶液を、カートリッジフィルターを先端に装着した 30mL 容のシリンジに注ぎ入れ、シリンジバレルで押し出してろ過を行った。ろ過した抽出溶液は、サンプル瓶に入

れて密栓し分析試料とした。分析試料は、分析を実施するまで冷蔵庫内で保管した。

分析試料を、「製材の日本農林規格」に記載の分光光度法に準拠し、濃度定量を行った。

分析試料の BKC 濃度定量には、分析機器として㈱島津製作所製の分光光度計 UV-1800 を使用し、分析を実施した。

なお、繰返しは 3 回とした。

(結果)

定量分析によって得られた結果を表 3.5.3-2 に示す。

表 3.5.3-2 BKCの分析結果

No.	BKC量		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉 1g当	絶乾木粉 1g当	気乾重量 (g)	含水率 (%)	絶乾重量 (g)	(mg)
BKC-1	12.48	13.43	1.0002	7.60	0.9296	12.48
BKC-2	12.15	13.08	1.0007	7.60	0.9300	12.16
BKC-3	12.35	13.29	1.0010	7.60	0.9303	12.36
平均	12.33	13.26				
標準偏差	0.13	0.14				

[シプロコナゾールについて（薬剤：CUAZ の場合）]

(実験方法)

CUAZ 処理スギ材から調製した木粉試料のうち 1g を 50mL 容のサンプル瓶に入れ、メタノールを 20mL 加えた後、超音波洗浄器内で 1.5 時間超音波照射して抽出を行った。超音波照射した抽出溶液を、カートリッジフィルターを先端に装着した 30mL 容のシリンジに注ぎ入れ、シリンジバレルで押し出してろ過を行った。ろ過した抽出溶液は、サンプル瓶に入れて密栓し、固層抽出を実施するまで冷蔵庫内で保管した。

抽出溶液は、3.3 の節に記載の手順で固層抽出を実施し、分析試料を調製した。

分析試料のシプロコナゾール濃度定量には、分析機器として㈱日立製作所製の HPLC システム D-7000 形、カラムは ODS3（粒子径 3μm、φ3×150mm）を使用し、分析を実施した。

なお、繰返しは 3 回とした。

(結果)

定量分析によって得られた結果を表 3.5.3-3 に示す。

表 3.5.3-3 シプロコナゾールの分析結果(CUAZ)

No.	シプロコナゾール量		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉 1g当	絶乾木粉 1g当	気乾重量 (g)	含水率 (%)	絶乾重量 (g)	(mg)
CUAZ-1	0.09	0.10	1.0005	7.62	0.9297	0.09
CUAZ-2	0.10	0.11	1.0018	7.62	0.9309	0.10
CUAZ-3	0.10	0.11	1.0020	7.62	0.9310	0.10
平均	0.10	0.11				
標準偏差	0.00	0.01				

[シプロコナゾールについて（薬剤：AZN の場合）]

(実験方法)

AZN 処理スギ材から調製した木粉試料のうち 1g を 50mL 容のサンプル瓶に入れ、メタノールを 20mL 加えた後、超音波洗浄器内で 1.5 時間超音波照射して抽出を行った。超音波照射した抽出溶液を、カートリッジフィルターを先端に装着した 30mL 容のシリンジに注ぎ入れ、シリンジバレルで押し出してろ過を行った。ろ過した抽出溶液は、サンプル瓶に入れて密栓し、固層抽出を実施するまで冷蔵庫内で保管した。

抽出溶液は、3.3 の節に記載の手順で固層抽出を実施し、分析試料を調製した。

分析試料のシプロコナゾール濃度定量には、分析機器として㈱日立製作所製の HPLC システム D-7000 形、カラムは ODS3（粒子径 3μm、φ3×150mm）を使用し、分析を実施した。

なお、繰返しは 3 回とした。

(結果)

定量分析によって得られた結果を表 3.5.3-4 に示す。

表 3.5.3-4 シプロコナゾールの分析結果(AZN)

No.	シプロコナゾール量		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉 1g当	絶乾木粉 1g当	気乾重量 (g)	含水率 (%)	絶乾重量 (g)	(mg)
AZN-1	0.33	0.35	1.0014	6.75	0.9381	0.33
AZN-2	0.39	0.41	1.0008	6.75	0.9375	0.39
AZN-3	0.46	0.49	1.0025	6.75	0.9391	0.46
平均	0.39	0.42				
標準偏差	0.06	0.06				

[改良された分析方法の評価]

・ DDAC 及び BKC の旧来の製材の農林規格の試料溶液の調製方法は、塩酸-エタノールを使用して3時間煮沸を行うものであり、取扱いが難しいものであった。これが改良法では、熱源を使用せず超音波照射のみで抽出を行うため簡易であり、試料調製の準備や後片付

けも含めると時間短縮効果が高いものと考えられる。

・ シプロコナゾールの分析については、固層抽出によって木材由来の夾雑ピークが除去され、シプロコナゾールのピークが明瞭になったことから、分析のやり直しによる作業負担軽減及び時間短縮になるものと考えられる。

3.5.4 株式会社ザイエンス

[DDAC について]

(実験方法)

AAC 処理材から調製した木粉試料のうち 1g を 50ml 容のサンプル瓶に入れ、ギ酸-メタノール(3：100、v/v)を 40ml 加えた後、超音波洗浄器内で 3 時間抽出した。なお、繰り返しは 3 回とした。

超音波抽出後、抽出液を 50ml ポリプロピレン製シリンジ及び 0.45μm のカートリッジフィルター(φ=17mm)でろ過した。

抽出液に含まれる DDAC を、分光光度計で測定した。分光光度計による測定は、製材の JAS に準じて実施した。分光光度計は、日立 U-1800 を使用した。

(結果)

定量分析によって得られた結果を表 3.5.4-1 に示す。

表 3.5.4-1 DDAC の定量分析結果

No.	DDAC 量(mg)		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉	絶乾木粉	気乾重量	含水率	絶乾重量	
	1g 当	1g 当	(g)	(%)	(g)	(mg)
AAC-1	14.70	15.67	1.0340	6.20	0.970	15.20
AAC-2	14.83	15.81	1.0091	6.20	0.947	15.00
AAC-3	14.92	15.91	1.0024	6.20	0.940	15.00
平均	14.82	15.80				
標準偏差	0.09	0.10				

[BKC について]

(実験方法)

ACQ 処理材から調製した木粉試料のうち 1g を 50ml 容のサンプル瓶に入れ、ギ酸-メタノ

ール(3：100、v/v)を 40ml 加えた後、超音波洗浄器内で 3 時間抽出した。なお、繰り返しは 3 回とした。

超音波抽出後、抽出液を 50ml ポリプロピレン製シリンジ及び 0.45μm のカートリッジフィルター(φ=17mm)でろ過した。

抽出液に含まれる BKC を、分光光度計で測定した。分光光度計による測定は、製材の JAS に準じて実施した。分光光度計は、日立 U-1800 を使用した。

(結果)

定量分析によって得られた結果を表 3.5.4-2 に示す

表 3.5.4-2　BKC の定量分析結果

No.	BKC 量(mg)		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉 1g 当	絶乾木粉 1g 当	気乾重量 (g)	含水率 (%)	絶乾重量 (g)	(mg)
ACQ-1	10.63	11.19	1.0290	5.00	0.978	10.94
ACQ-2	10.70	11.26	1.0072	5.00	0.957	10.77
ACQ-3	10.87	11.44	1.0135	5.00	0.963	11.01
平均	10.73	11.30				
標準偏差	0.10	0.11				

[シプロコナゾールについて(薬剤：CUAZ の場合)]

(実験方法)

CUAZ 処理材から調製した木粉試料のうち 1g を 50ml 容のサンプル瓶に入れ、メタノールを 20ml 加えた後、超音波洗浄器内で 1.5 時間抽出した。なお、繰り返しは 3 回とした。

超音波抽出後、抽出液を 30ml ポリプロピレン製シリンジ及び 0.45μm のカートリッジフィルター(φ=17mm)でろ過した。

抽出液を 3.4 に記した固相抽出の手順に準じて精製した。精製後の試料液に乾燥窒素ガスを吹き付けて乾固させた後、1ml の HPLC 移動相で再溶解させ、表 3.5.4-3 に示した HPLC 分析条件で分析した。

表 3.5.4-3　HPLC 分析条件

分析カラム	Inertsil ODS-3 3μm (ジーエルサイエンス)
カラムサイズ	内径 3mm×長さ 150mm

ガードカラムサイズ	内径 3mm×長さ 10mm
移動相	アセトニトリル：蒸留水：0.1M リン酸緩衝液(pH2.1)=60：30：10
流速	0.6ml/min
検出器	UV 221nm
カラム温度	40℃
注入量	10μl

(結果)

定量分析によって得られた結果を表 3.5.4-4 に示す

表 3.5.4-4　シプロコナゾールの定量分析結果(CUAZ)

No.	シプロコナゾール量 (mg)		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉 1g 当	絶乾木粉 1g 当	気乾重量 (g)	含水率 (%)	絶乾重量 (g)	(mg)
CUAZ-1	0.0486	0.0527	1.0935	7.70	1.009	0.0532
CUAZ-2	0.0464	0.0503	1.0238	7.70	0.945	0.0475
CUAZ-3	0.0469	0.0509	1.0711	7.70	0.989	0.0503
平均	0.0473	0.0513				
標準偏差	0.0012	0.0010				

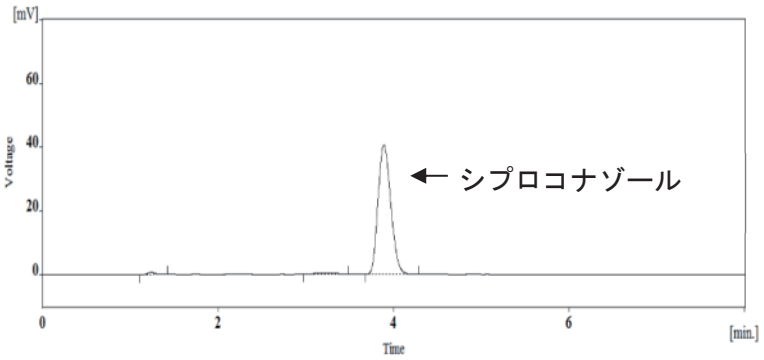

図 3.5.4-1.　シプロコナゾール標準品のクロマトグラム

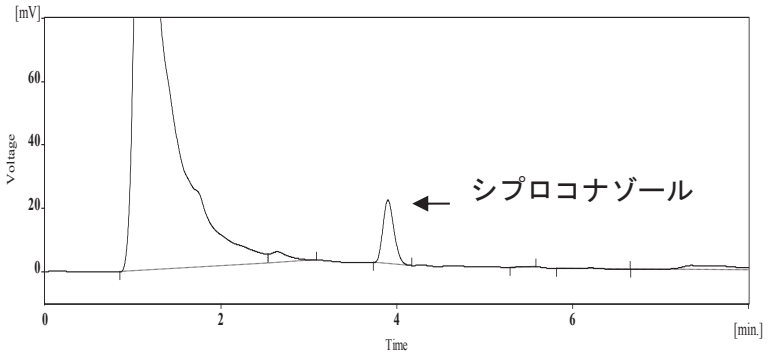

図 3.5.4-2. CUAZ 抽出液のクロマトグラム

[シプロコナゾールについて(薬剤：AZN の場合)]

(実験方法)

AZN 処理材から調製した木粉試料のうち 1g を 50ml 容のサンプル瓶に入れ、メタノールを 20ml 加えた後、超音波洗浄器内で 1.5 時間抽出した。なお、繰り返しは 3 回とした。
抽出後、抽出液を 30ml ポリプロピレン製シリンジ及び 0.45μm のカートリッジフィルターでろ過して試料液とした。

試料液を 3.4 に記した固相抽出の手順に準じて精製した。精製後の試料液を、乾燥窒素ガスを吹き付けて乾固させた後、1ml の HPLC 移動相で再溶解させ、表 3.5.4-3 に示した HPLC 分析条件で分析した。

(結果)

定量分析によって得られた結果を表 3.5.4-5 に示す。

表 3.5.4-5　シプロコナゾールの定量分析結果(AZN)

No.	シプロコナゾール量 (mg)		試料木粉			抽出液中
	気乾木粉 1g 当	絶乾木粉 1g 当	気乾重量 (g)	含水率 (%)	絶乾重量 (g)	(mg)
AZN-1	0.3140	0.3341	1.0245	6.00	0.963	0.3217
AZN-2	0.3588	0.3588	1.0373	6.00	0.975	0.3450
AZN-3	0.3590	0.3590	1.0227	6.00	0.961	0.3451
平均	0.3439	0.3506				
標準偏差	0.0259	0.0117				

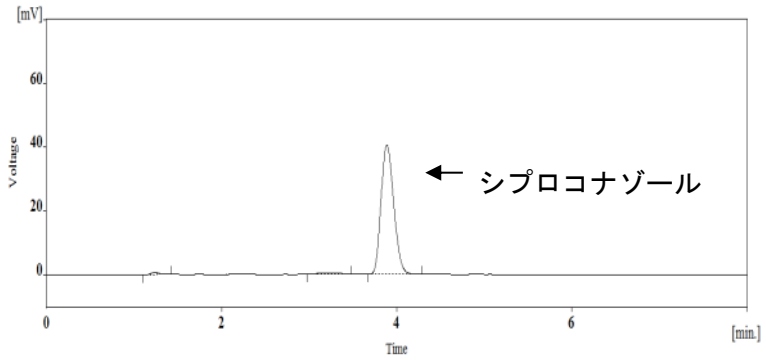

図 3.5.4-3 シプロコナゾール標準品のクロマトグラム

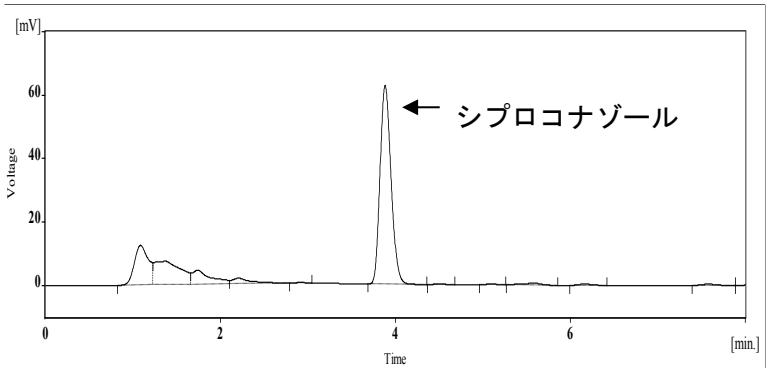

図 3.5.4-4. AZN 抽出液のクロマトグラム

［改良された分析方法の評価］

① AAC や ACQ の分析で採用している超音波抽出法は、従来の JAS 法と比べると、加熱や容量の大きな抽出容器が不要であるため操作がしやすい。また、分析値のばらつきを生じさせやすい洗浄操作やろ過、定容までの工程が簡便化されているため、分析精度も向上させやすいと考えられる。

② シプロコナゾールの分析においても、少量の溶媒を使用した洗浄や定容といったミスしやすい繊細な作業を必要とせず、迅速化されている。

第 4 章 事業の総括と残された課題

本事業では，CLT 等の木質材料に使用される可能性のある国産材であるスギ、ヒノキ，カラマツ，トドマツの 4 樹種を対象に、第 4 級アンモニウム化合物、アゾール化合物およびネオニコチノイド化合物について，現在用いられている分析方法の見直しおよび最新鋭の機器や実験技術の導入を図り、高精度かつ迅速な分析方法を確立することを目的とした検討を行った。以下、本事業の総括として確立した方法の特徴や製材の JAS で規定されている方法に対しどのような利点を有しているかなどについて、化合物ごと記載する。

[第四級アンモニウム化合物]

・DDAC と DMPAP の抽出溶媒をギ酸-エタノールに、抽出方法を超音波照射にすることでろ過方法を簡易化し、1 サンプルに必要な時間を 1/10 以下に短縮することが可能となった。
・DDAC および DMPAP の機器分析を自動化が容易で迅速な分析が可能な超高速液体クロマトグラフにより実施できる可能性を確認した。

[アゾール化合物について]

・シプロコナゾールおよびテブコナゾールの抽出時間を 2/3 に短縮した。
・抽出後のろ過方法を簡易化することにより 1 サンプルに必要な時間を 1/10 以下に短縮することが可能となった。
・分析に影響する木材成分を除去するために行われる固相抽出法の手順を効率化した。
・超高速液体クロマトグラフを用いた分析方法を確立し、機器分析に必要な時間を 1/10 程度に短縮した。

[ネオニコチノイド化合物について]

・イミダクロプリドの抽出溶媒をアセトニトリルに変更することで、ろ過方法を簡易化することにより 1 サンプルに必要な時間を 1/10 以下に短縮することが可能となった。
・分析に影響する木材成分を除去するため、分散型固相抽出を用いた試料精製法を確立し、分析方法を高精度化した。
・超高速液体クロマトグラフを用いた分析方法を確立し、機器分析に必要な時間を 1/10 程度に短縮した。

また、確立された分析方法を用い複数機関で共通の試料について分析を実施したところ，いずれの機関においてもおおむね同様の結果を得ることができた。しかし、一部の有効成分については機関間の差が大きいものがあった。また、各機関の担当者が試験を実施した感想として、製材の JAS の方法に対して利点を有していることが報告された。

以上のように、本事業で確立した分析方法を活用することで、これまでの分析方法よりも高精度かつ迅速な分析が可能となった。しかし、一部の有効成分については機関間の差

が大きいものがあった。この要因として、各担当者が新しい分析方法に不慣れであったこと、各機関で定量分析に用いる標品の入手先や純度が異なっていたことが考えられた。分析結果についての信頼性を向上させるためには、分析担当者に対する技術的な講習会の実施、標品の統一や、純度確認方法の開発が必要であると考えられる。また、表 3-1 に示した有効成分のうちこれらについても、本事業と同様の取り組みを行い、高精度化・迅速化を図る必要がある。

引用文献

1)製材の日本農林規格：農林水産省告示第 1920 号（平成 25 年 6 月 12 日）

2)日本工業規格　K 1570:2010, 木材保存剤, 日本規格協会 (2010)

3) Craig S. Young, John W. Dolan: Success with Evaporative Light-Scattering Detection, *LC·GC Europe* 2-5, March (2003)

4) 宮内輝久；桃原郁夫；森　満範, 固相抽出-HPLC-UV 法によるタナリス CY 処理木材中のシプロコナゾールの定量分析, 木材保存 33(5) , 218-225 (2007)

5) S. Baskaran, Rai S. Kookana, R. Naidu: Determination of the insecticide imidacloprid in water and soil using high-performance liquid chromatography, *J Chrom A* 787(1-2) 271-275 (1997)

執筆者一覧

はじめに　(財)建築研究協会　今村祐嗣

第 1 章　　(公社)日本木材保存協会　石坂清人

第 2 章　　(公社)日本木材保存協会　石坂清人

第 3 章　3.1　(地独)北海道立総合研究機構　林産試験場　宮内輝久

3.2　(独)森林総合研究所　桃原郁夫

3.3　(地独)北海道立総合研究機構　林産試験場　宮内輝久

3.4　(地独)北海道立総合研究機構　林産試験場　宮内輝久

3.5.1　(公財)日本住宅・木材技術センター　大澤朋子

3.5.2　大日本木材防腐(株)　赤堀裕一

3.5.3　兼松日産農林(株)　中井大二郎

3.5.4　(株)ザイエンス　池田学

第 4 章　　(地独)北海道立総合研究機構　林産試験場　宮内輝久