

イプロジオン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

イプロジオン

2. 適用食品

農産物

3. 装置

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-UV）

4. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

イプロジオン標準品 本品はイプロジオン95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類，豆類及び種実類

検体を420 μmの標準網ふるいを通して粉砕した後、その20.0 gを量り採る。

これにアセトニトリル100 mLを加え、1時間放置した後、3分間細砕し、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ液を500 mLの分液漏斗(I)に移す。次いでろ紙上の残留物を採り、アセトニトリル100 mLを加え、3分間細砕し、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ液を分液漏斗(I)に合わせる。これにアセトニトリル飽和*n*-ヘキサン50 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、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30 mLに濃縮する。

これをあらかじめ10%塩化ナトリウム溶液100 mL及び酢酸エチル100 mLを入れた500 mLの分液漏斗(II)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500 mLの分液漏斗(III)に移す。水層に酢酸エチル100 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を分液漏斗(III)に合わせる。これに10%塩化ナトリウム溶液50 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を500 mLの三角フラスコに移す。

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50 mLを用いて上記の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℃以下で酢酸エチルを除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

② 果実、野菜及び抹茶の場合

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

抹茶の場合は、検体10.0 gを量り採る。

これにアセトン100 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100 mLを加え、3分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で約50 mLに濃縮する。

これに5 mol/L水酸化ナトリウム溶液を加えてpH 6~7に調整し、あらかじめ10%塩化ナトリウム溶液100 mL及び酢酸エチル100 mLを入れた500 mLの分液漏斗(I)に移す。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500 mLの分液漏斗(II)に移す。水層に酢酸エチル100 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を分液漏斗(II)に合わせる。

これに10%塩化ナトリウム溶液50 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を500 mLの三角フラスコに移す。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50 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で酢酸エチルを除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

③ 抹茶以外の茶の場合

検体10.0 gを100°Cの水600 mLに浸し、室温で5分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液300 mLを500 mLの三角フラスコ(I)に移す。これにアセトン100 mL及び飽和酢酸鉛溶液2 mLを加え、15分間緩やかに振り混ぜた後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ液を1,000 mLの分液漏斗に移す。次いでアセトン及び水の混液(1:1) 50 mLを用いて三角フラスコ(I)を洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う。洗液を上記の分液漏斗に合わせる。

これに塩化ナトリウム20 g及び*n*-ヘキサン100 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を500 mLの分液漏斗に移す。水層に*n*-ヘキサン100 mLを加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の分液漏斗に合わせる。

これに10%塩化ナトリウム溶液50 mLを加え、振とう機を用いて5分間振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を500 mLの三角フラスコ(II)に移す。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50 mLを用いて三角フラスコ(II)を洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗

う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で*n*-ヘキサンを除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

内径20 mm、長さ300 mmのクロマトグラフ管に、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム10 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8 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1) 抽出法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(1:1) 100 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン及び*n*-ヘキサンの混液(3:17) 100 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40°C以下でアセトン及び*n*-ヘキサンを除去する。この残留物にアセトニトリルを加えて溶かし、正確に5 mLとして、これを試験溶液とする。

6. 操作法

1) 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

(例)

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル(粒子径5 µm)を用いる。

クロマトグラフ管 内径4.5 mm, 長さ150 mmのステンレス管を用いる。

カラム温度 25°C

検出器 波長230 nmで操作する。

移動相 アセトニトリル及び水の混液(3:2)を用いる。イプロジオンが約9分で流出する流速に調整する。

2) 定量試験

1) 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、イプロジオンについてピーク高法又はピーク面積法により定量を行い、イプロジオンの含量を求める。

7. 定量限界

0.05 mg/kg

8. 参考文献

なし

9. 類型

A