

クロジナホッププロパルギル試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

クロジナホッププロパルギル

2. 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）

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

3. 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。

ロジナホッププロパルギル標準品 本品はクロジナホッププロパルギル99%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料25.0 gにアセトニトリル100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトニトリル50 mLを加え、同様にろ過し、ろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて250 mLとする。この10 mLを採り、*n*-ヘキサン3 mLずつで2回振とう洗浄する。アセトニトリル層を40°C以下で5 mLに濃縮し、水を加えて20 mLとする。

2) 精製

(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ー

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）にメタノール2 mL、アセトニトリル及び水（1：3）混液2 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに1)で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン2 mLを注入し、溶出液に水を加えて16 mLとし、さらに飽和塩化ナトリウム溶液4 mLを加える。これをエーテル及び*n*-ヘキサン（1：9）混液3 mLずつで3回振とう抽出する。

(2) シリカゲルカラムクロマトグラフィー

シリカゲルミニカラム（690 mg）に(1)で得られた溶液を注入し、さらにエーテル及び*n*-ヘキサン（1：9）混液9 mLを注入し、全溶出液を採り、40°C以下で溶媒を除去する。残留物をテトラヒドロフラン及び*n*-ヘキサン（1：9）混液に溶解し正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

クロジナホッププロパルギル標準品の0.01～0.2 mg/Lテトラヒドロフラン及び*n*-ヘキサン（1：9）混液溶液を数点調製し、それぞれ100 μLをHPLC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。

6. 定量

試験溶液100 μLをHPLCに注入し、5の検量線でクロジナホッププロパルギルの含量を求める。

7. 確認試験

LC/MSにより確認する。

8. 測定条件

HPLC

検出器：UV（波長226 nm）

カラム：アミノプロピルシリル化シリカゲル（粒径5 μm） 内径4.6 mm、長さ250 mm

移動相：テトラヒドロフラン及び*n*-ヘキサン（1：9）混液

保持時間の目安：8分

9. 定量限界

0.02 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

クロジナホッププロパルギルを試料からアセトニトリルで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製し、エーテル及び*n*-ヘキサン混液に転溶する。さらに、シリカゲルミニカラムで精製した後、HPLC-UVで測定し、LC/MSで確認する方法である。

2) 注意点

- (1) 本法は小麦を対象とした試験法である。引用文献のHPLC測定条件を変更した。
- (2) クロジナホッププロパルギルは酸性条件下では比較的安定であるが、塩基性条件下では急速に分解し、酸体となる（pH 9での半減期約2時間）。
- (3) 妨害ピークが出現する場合は、類型に示した引用文献の方法（カラムスイッチング方式）を行うとよい。
- (4) 作物によっては、参考文献に示す一斉試験法も適用可能である。

11. 参考文献

1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法」LC/MSによる農薬等の一斉試験法I（農産物）

12. 類型

D (Altenburger, E., Determination of residues of parent compounds by liquid chromatography(HPLC) wheat, Novartis Crop Protection社報告,
http://www.epa.gov/oppbead1/methods/rammethods/1999_088M.tif)