

トリネキサパックエチル試験法

1. 分析対象化合物

トリネキサパックエチル、トリネキサパック [4-シクロプロピル (ヒドロキシ) メチレン-3,5-ジオキソシクロヘキサン酢酸]

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。

トリネキサパックエチル標準品 本品はトリネキサパックエチル99%以上を含み、融点は36~37°Cである。

トリネキサパック標準品 本品はトリネキサパック99%以上を含む。

4. 試験溶液調製法

1) 抽出

試料10.0 gを量り採り、水20 mLを加え、2時間放置する。

これにアセトン100 mL及び6 mol/L塩酸0.5 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、アセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過を行う。得られたろ液を合わせ、40°C以下で約20 mLまで濃縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液100 mL及び6 mol/L塩酸0.5 mLを加え、酢酸エチル・*n*-ヘキサン混液 (1 : 1) 100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に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°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。

この残留物に*n*-ヘキサン30 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLずつで3回振とう抽出する。抽出液を40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をエーテル・*n*-ヘキサン混液 (1 : 19) で溶解し、正確に10 mLとしたものを抽出溶液とする。

2) 精製

(1) ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にエーテル・*n*-ヘキサン混液 (1 : 19) 10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた抽出溶液5 mLを注入し、流出液は捨てる。さらに、エーテル・*n*-ヘキサン混液 (1 : 19) 5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、エーテル・*n*-ヘキサン混液 (1 : 9) 15 mLを注入し、溶出液を分取する (溶出液 I)。次いで、酢酸エチル・*n*-ヘキサン混液 (3 : 7) 10 mLを注入し、溶出液を分取する (溶出液 II)。溶出液 I を40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。

この残留物をアセトニトリル・酢酸・水混液（40：1：60）で溶解し、正確に1 mLとしたものをトリネキサパックエチル用試験溶液とする。

(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（500 mg）に酢酸エチル・*n*-ヘキサン混液（3：7）10 mLを注入し、流出液は捨てる。(1)で得られた溶出液Ⅱを注入し、流出液は捨てる。さらに、アセトン5 mL及びアセトン・メタノール混液（7：3）5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、アセトン・酢酸・メタノール混液（35：1：15）10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル・酢酸・水混液（20：1：80）で溶解し、正確に1 mLとしたものをトリネキサパック用試験溶液とする。

5. 検量線の作成

トリネキサパックエチル標準品については、アセトニトリル・酢酸・水混液（40：1：60）で、トリネキサパック標準品については、アセトニトリル・酢酸・水混液（20：1：80）で、それぞれ0.1～2 mg/Lの標準溶液を数点調製し、それぞれ10 μLをHPLCに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液10 μLをHPLCに注入し、5の検量線でトリネキサパックエチル及びトリネキサパックの含量を求め、次式によりトリネキサパックを含むトリネキサパックエチルの含量を求める。

トリネキサパックエチル（トリネキサパックを含む）の含量（mg/kg）

$$= A+B \times 1.13$$

A：トリネキサパックエチルの含量（mg/kg）

B：トリネキサパックの含量（mg/kg）

7. 測定条件

HPLC

(1) トリネキサパックエチルの試験

検出器：UV（波長280 nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径5 μm） 内径4～4.6 mm、長さ250 mm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル・酢酸・水混液（40：1：60）

保持時間の目安：11分

(2) トリネキサパックの試験

検出器：UV（波長280 nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径5 µm） 内径4～4.6 mm、長さ250 mm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル・酢酸・水混液（20：1：80）

保持時間の目安：15分

8. 定量限界

0.02 mg/kg

9. 留意事項

1) 分析値

トリネキサパックエチルは、トリネキサパックエチル及びトリネキサパックのそれぞれについて定量を行い、トリネキサパックについてはその含量に係数を乗じてトリネキサパックエチルの含量に換算し、これらの和を分析値とすること。

2) 試験法の概要

トリネキサパックエチル及びトリネキサパックを塩酸酸性下で試料からアセトンで抽出し、酢酸エチル・*n*-ヘキサン混液に転溶する。アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルカラムで2画分に分けて溶出し、トリネキサパックエチル溶出画分についてはそのまま、トリネキサパック溶出画分についてはさらにシリカゲルミニカラムで精製した後、それぞれをHPLC (UV) で測定し、LC/MSで確認する方法である。

10. 参考文献

- 1) 平成12年環境庁告示第32号「トリネキサパックエチル試験法」
- 2) 上路ら編著「2002年版残留農薬分析法」p.512-514、ソフトサイエンス社（2001）

11. 類型

C