

フェノキサプロップエチル試験法

1. 分析対象化合物

フェノキサプロップエチル、フェノキサプロップPエチル、フェノキサプロップ、フェノキサプロップP、CDHB [6-クロロ-2,3-ジヒドロベンゾオキサゾール-2-オン]

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。

フェノキサプロップエチル標準品 本品はフェノキサプロップエチル98%以上を含み、融点は85~87℃である。

4. 試験溶液調製法

1) 抽出

(1) 穀類、豆類及び種実類の場合

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て、40℃以下で約30 mLまで濃縮する。これに塩化ナトリウム20 g及び0.5 mol/L塩酸100 mLを加え、酢酸エチル・*n*-ヘキサン混液 (3 : 7) 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℃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2回振とう抽出する。抽出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

(2) 果実及び野菜の場合

試料20.0 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て、40℃以下で約30 mLまで濃縮する。これに塩化ナトリウム20 g及び0.5 mol/L塩酸100 mLを加え、酢酸エチル・*n*-ヘキサン混液 (3 : 7) 100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

2) 加水分解

1) で得られた残留物に0.5 mol/L塩酸10 mLを加え、密栓し、時々振り混ぜながら、50℃で30分間加温する。これに10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、酢酸エチル・*n*-ヘキサ

ン混液（3：7）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℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

3) 精製

2) で得られた残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

グリセリルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム（360 mg）（I）の下にトリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲル及びベンゼンスルホン酸シリル化シリカゲル混合ミニカラム（600 mg）（II）を連結し、*n*-ヘキサン10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記の溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、*n*-ヘキサン10 mL及びアセトン・*n*-ヘキサン混液（1：19）30 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。ミニカラム（I）を取り外して捨て、ミニカラム（II）にアセトン・*n*-ヘキサン混液（1：1）30 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に溶解し、1 mLとしたものを試験溶液とする。但し、対象農作物が大豆、えだまめ、いんげんの場合は、アセトニトリルの代わりに*n*-ヘキサン5 mLに溶かし、さらに、次の精製を追加する。

クロマトグラフ管（内径15 mm）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5 gを*n*-ヘキサンに懸濁させて充てんし、上に無水硫酸ナトリウム約5 gを積層する。このカラムに、上で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに*n*-ヘキサン10 mL及びアセトン・*n*-ヘキサン混液（1：19）150 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、アセトン・*n*-ヘキサン混液（3：7）150 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に溶解し、正確に1 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

フェノキサプロップエチル標準品の100 mg/Lアセトン溶液を調製し、この1 mLを採り、室温で窒素ガスを通じて溶媒を除去する。この残留物について、4の2)と同様の操作を行い、その残留物にアセトニトリルを加えて溶かし、50 mLとする。この溶液をアセトニトリルで希釈し、フェノキサプロップエチルの0.1～2 mg/Lアセトニトリル溶液を数点調製し、それぞれ20 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20 μLをHPLCに注入し、5の検量線でフェノキサプロップエチルの含量を求める。

7. 測定条件

1) HPLC

検出器：UV（波長235 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4.6 mm、長さ 250 mm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル・0.01%トリクロロ酢酸混液（3：7）から（1：0）までの濃度勾配を30分間で行う。

保持時間の目安：10分

2) LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径 3 μm ） 内径 2 mm、長さ 150 mm

カラム温度：40°C

移動相：0.2%酢酸含有アセトニトリル・0.2%酢酸混液（3：97）から（97：3）までの濃度勾配を10分間で行う。

イオン化モード：ESI（-）

主なイオン： m/z 168、170

保持時間の目安：10分

8. 定量限界

0.05 mg/kg

9. 留意事項

1) 分析値

フェノキサプロップエチルは、フェノキサプロップエチル及びフェノキサプロップをCDHBに変換した後、CDHBについて定量を行い、その含量に係数を乗じてフェノキサプロップエチルの含量に換算し、これを分析値とすること。フェノキサプロップエチルの分析値には、フェノキサプロップエチル、フェノキサプロップPエチル、フェノキサプロップ、フェノキサプロップP、CDHBが含まれる。

2) 試験法の概要

フェノキサプロップエチル、フェノキサプロップPエチル、それらの代謝物であるフェノキサプロップ、フェノキサプロップP及びCDHBを試料からアセトニトリルで抽出し、酢酸エチル・*n*-ヘキサン混液に転溶する。果実、野菜はそのまま、穀類等はアセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、塩酸で加水分解し、フェノキサプロップエチル及びフェノキサプロップをCDHBに変換する。グリセリルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム、トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルとベンゼンスルホン酸シリル化シリカゲル混合ミニカラム及び合成ケイ酸マグネシウムカラムで精製した後、CDHBをHPLC (UV)で測定し、LC/MSで確認する方法である。

3) 注意点

- (1) 7に示したHPLC測定条件で、フェノキサプロップエチル及びフェノキサプロップも同時に検出可能である。保持時間は、CDHB約10分、フェノキサプロップ約17分、フェノキサプロップエチル約24分である。
- (2) 4の2)に示した操作によるフェノキサプロップエチルからCDHBの変換率は95%程度である。CDHB標準品が入手できる場合は、CDHBの検量線を作成し、CDHBを定量し、次式により、フェノキサプロップエチルの含量を求めることができる。
フェノキサプロップエチル（フェノキサプロップ及びCDHBを含む）の含量
= CDHBの含量×2.13
- (3) ここに示された定量限界値より基準値が低い作物については、試験溶液をさらに濃縮する、又は試料量を増やす等の方法で対応する。
- (4) フェノキサプロップエチルは、本試験法で加水分解して生成されるCDHBとして測定することができる。

10. 参考文献

- 1) 昭和63年環境庁告示第7号「フェノキサプロップエチル試験法」
- 2) Y.Hirahara, et.al., J.Food Hyg. Soc. Japan, 36, 289-292, 1995

11. 類型

C