

ジノテフラン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

ジノテフラン

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。

ジノテフラン標準品 本品はジノテフラン99%以上を含み、融点は107.5℃である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合は試料10.0 gに水20 mLを加え、2時間放置する。

果実、野菜及びハーブの場合は試料20.0 gを量り採る。

茶の場合は試料5.00 gに水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、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトニトリルを加え正確に200 mLとする。この50 mL（茶の場合は10 mL）を40℃以下で約5 mLまで濃縮する。

2) 精製

(1) 多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィー

1) で得られた溶液に水10 mLを加え、多孔性ケイソウ土カラム（20 mL保持用）に流し入れ、10分間放置する。*n*-ヘキサン100 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで酢酸エチル200 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル5 mLを加えて溶かす。

(2) グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム（500 mg）に酢酸エチル5 mLを注入し、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た後、酢酸エチル15 mLを注入する。全溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル5 mLを加えて溶かす。

(3) 中性アルミナカラムクロマトグラフィー

中性アルミナミニカラム（1,710 mg）に酢酸エチル5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに(2)で得られた溶液を注入した後、酢酸エチル15 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン20 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

残留物を水に溶解し、穀類、豆類、種実類及び茶の場合は正確に1 mL、果実、野菜及びハーブの場合は正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ジノテフラン標準品の0.025～0.5 mg/L水溶液を数点調製し、それぞれ40 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40 µLをHPLCに注入し、5の検量線でジノテフランの含量を求める。

7. 確認試験

LC/MSにより確認する。

8. 測定条件

1) HPLC

検出器：UV（波長270 nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径3～5 µm）、内径4.6 mm、長さ150～250 mm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び水（1：9）混液

保持時間の目安：8分

2) LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径3～5 µm）、内径2～2.1 mm、長さ 150 mm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び2 mmol/L酢酸アンモニウム（1：9）混液

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）：203

注入量：2 µL

保持時間の目安：5分

9. 定量限界

0.01 mg/kg（茶の場合は0.1 mg/kg）

10. 留意事項

1) 試験法の概要

ジノテフランを試料からアセトニトリルで抽出し、多孔性ケイソウ土カラム、グラファイトカーボンミニカラム及び中性アルミナミニカラムにより精製した後、HPLC-UVで測定、LC/MSで確認する方法である。

2) 注意点

- (1) 抽出時、豆類等の試料が十分に分散しない場合には、水で膨潤させた試料にケイソウ土を加えた後、アセトニトリルを加えてホモジナイズし、抽出効率の向上を図る。
- (2) 夾雑成分の多い試料ではHPLC分析において、ジノテフラン溶出後に移動相を十分に流しカラム内に残存する夾雑物を溶出させた後に、次の分析を行う。

11. 参考文献

環境省告示第35号「ジノテフラン試験法」（平成14年4月24日）

12. 類型

C