

ジクラズリル及びナイカルバジン試験法

1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
ジクラズリル	ジクラズリル
ナイカルバジン	<i>N,N'</i> -ビス-(4-ニトロフェニル)ウレア

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を用いる。

3. 試薬・試液

総則の3に示すものを用いる。

4. 標準品

ジクラズリル 本品はジクラズリル99%以上を含む。

分解点 本品の分解点は295°Cである。

ナイカルバジン 本品は*N,N'*-ビス-(4-ニトロフェニル)ウレア70~72%を含む。

分解点 本品の分解点は265~275°Cである。

5. 試験溶液の調製

a 抽出法

筋肉の場合は、可能な限り脂肪層を除き、細切均一化した後、その5.00 gを量り採る。

脂肪の場合は、可能な限り筋肉層を除き、細切均一化した後、その5.00 gを量り採る。

肝臓及び腎臓の場合は、細切均一化した後、その5.00 gを量り採る。

これにアセトニトリル30 mL、アセトニトリル飽和*n*-ヘキサン20 mL及び無水硫酸ナトリウム10 gを加え、細砕した後、毎分3,000回転で5分間遠心分離を行い、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。遠心分離管の*n*-ヘキサン層及び残留物にアセトニトリル20 mLを加え、振とう機を用いて1分間激しく振り混ぜた後、上記と同様の条件で遠心分離を行い、アセトニトリル層をそのすり合わせ減圧濃縮器中に合わせる。*n*-プロパノール10 mLを加え、40°C以下でアセトニトリル及び*n*-プロパノールを除去する。残留物にメタノール3 mLを加えて溶かし、0.05 mol/Lリン酸-ナトリウム7 mLを加えて溶かす。

b 精製法

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10 mL及び0.05 mol/Lリン酸-ナトリウム10 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムにa 抽出法で得られた溶液を注入した後、メタノール及び0.05 mol/Lリン酸-ナトリウムの混液 (3 : 7)

10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに水及びメタノールの混液（1：4）10 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下でメタノールを除去する。この残留物にメタノール1.0 mLを加えて溶かし、これを試験溶液とする。

6. 操作法

a 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

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径5 μm）を用いる。

カラム管 内径4.0～6.0 mm，長さ150 mmのステンレス管を用いる。

カラム温度 40℃

検出器 ジクラズリルの試験を行う場合は、吸光波長275 nmで操作する。ナイカルバジンの試験を行う場合は、吸光波長350 nmで操作する。

移動相 アセトニトリル及び0.025 mol/Lリン酸-ナトリウム溶液の混液（1：1）を用いる。ジクラズリルの試験を行う場合は、ジクラズリルが約8分で流出する流速に調整する。ナイカルバジンの試験を行う場合は、*N,N'*-ビス-(4-ニトロフェニル)ウレアが約6分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 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、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

7. 定量限界

ジクラズリル 0.1 mg/kg

ナイカルバジン 0.02 mg/kg (*N,N'*-ビス-(4-ニトロフェニル)ウレアとして)

8. 留意事項

(1) 試験溶液の調製

精製法において用いるオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムは、予めジクラズリル及びナイカルバジン標準品を用いて、その保持及び溶出性能を確認すること。

(2) 標準溶液の調製

(1) ジクラズリル10.0 mgに相当する標準品を*N,N*-ジメチルホルムアミド10 mLに溶解後、メタノールを加えて100 mLとし、ジクラズリル標準原液とすること（ジクラズリル100 mg/L）。本標準原液は、0～4℃保存で3ヶ月間安定であること。

(2) *N,N*-ビス-(4-ニトロフェニル)ウレア10.0 mgに相当するナイカルバジン標準品を*N,N*-ジメチルホルムアミド10 mLに溶解後、アセトニトリルを加えて200 mLとし、ナ

イカルバジン標準原液とすること(*N,N*-ビス-(4-ニトロフェニル)ウレア50 mg/L)。本標準原液は、0～4℃保存で1ヶ月間安定であること。

(3) ジクラズリル及びナイカルバジン各標準原液をメタノールで通減希釈し、検量線作成用標準溶液とすること。

(3) その他

本試験法によりジクラズリル及びナイカルバジンが検出された場合には、紫外可視多波長検出器及び質量検出器付き高速液体クロマトグラフを用いて確認することが望ましいこと。

9. 参考文献

なし

10. 類型

A