

## シプロジニル試験法

### 1. 分析対象化合物

シプロジニル

### 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及び液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる。

### 3. 試薬、試液

総則の3に示すものを用いる。

### 4. 標準品

シプロジニル 本品はシプロジニル99%以上を含む。

融点 本品の融点は76°Cである。

### 5. 試験溶液の調製

#### a 抽出法

穀類、豆類及び種実類の場合は、検体を420 µmの標準網ふるいを通るように粉碎した後、その10.0 gを量り採り、水20 mLを加え、2時間放置する。

果実及び野菜の場合は、検体約1 kgを精密に量り、必要に応じ適量の水を量って加え、細切均一化した後、検体20.0 gに相当する量を量り採る。

これにアセトン100 mLを加え、3分間細砕した後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン50 mLを加え、3分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で約30 mLに濃縮する。

これをあらかじめ10%塩化ナトリウム溶液100 mLを入れた300 mLの分液漏斗に移す。*n*-ヘキサン100 mLを用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を300 mLの三角フラスコに移す。水層に*n*-ヘキサン50 mLを加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで*n*-ヘキサン20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で*n*-ヘキサンを除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

#### b 精製法

(1) シリカゲルカラムクロマトグラフィー

内径15 mm、長さ300 mmのクロマトグラフ管に、カラムクロマトグラフィー用シリカゲル（粒径63～200 μm）5 gを*n*-ヘキサンに懸濁したもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約5 gを入れ、カラムの上端に少量の*n*-ヘキサンが残る程度まで*n*-ヘキサンを流出させる。このカラムにa 抽出法で得られた溶液を注入した後、*n*-ヘキサン50 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン及び*n*-ヘキサンの混液（1：9）50 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下でアセトン及び*n*-ヘキサンを除去する。この残留物にメタノール3 mLを加えて溶かし、これに水3 mLを加える。

(2) プロピルスルホニルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

プロピルスルホニルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）にメタノール5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで0.1 mol/L塩酸溶液5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに(1) シリカゲルカラムクロマトグラフィーで得られた溶液を注入した後、水及びメタノールの混液（1：1）10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアンモニア水及びメタノールの混液（1：19）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℃以下でアンモニア水及びメタノールを除去する。この残留物にメタノールを加えて溶かし、正確に10 mL（穀類、豆類及び種実類の場合は、5 mL）として、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。

クロマトグラフ管 内径4.6 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 波長270 nmで操作する。

移動相 水及びメタノールの混液（3：7）を用いる。シプロジニルが10～15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。

### c 確認試験

a 定性試験と同様の操作条件で液体クロマトグラフィー・質量分析を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。また、必要に応じ、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

0.003 mg/kg (果実にあつては0.002 mg/kg)

8. 留意事項

なし

9. 参考文献

なし

10. 類型

A