

シロマジン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

シロマジン

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を用いる。

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。

強塩基性陰イオン交換樹脂 カラムクロマトグラフィー用に製造した強塩基性陰イオン交換樹脂をその樹脂の5倍の体積の1 mol/L塩酸を用いて2回洗い、次いで水を用いてpHが中性になるまで洗う。さらにその樹脂の5倍の体積の1 mol/L水酸化ナトリウム溶液を用いて2回洗い、次いで水を用いて中性になるまで洗ったものを水に懸濁して冷暗所に保管する。

強酸性陽イオン交換樹脂 カラムクロマトグラフィー用に製造した強酸性陽イオン交換樹脂をその樹脂の5倍の体積の1 mol/L水酸化ナトリウム溶液を用いて2回洗い、次いで水を用いてpHが中性になるまで洗う。さらにその樹脂の5倍の体積の1 mol/L塩酸を用いて2回洗い、次いで水を用いて中性になるまで洗ったものを水に懸濁して冷暗所に保管する。

4. 標準品

シロマジン 本品はシロマジン99%以上を含む。

融点 本品の融点は220～222℃である。

5. 試験溶液の調製

a 抽出法

豆類の場合は、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。

これに水及びメタノールの混液（1：9）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300 mLの三角フラスコ中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、水及びメタノールの混液（1：9）50 mLを加え、3分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその三角フラスコ中に合わせ、水及びメタノールの混液（1：9）を加え、正確に200 mLとする。

b 精製法

(1) 強酸性陽イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィー

内径10 mm、長さ300 mmのクロマトグラフ管に、強酸性陽イオン交換樹脂（粒径50～150 μm）3 mLを水に懸濁したものを入れ、カラムの上端に少量の水が残る程度まで水を流出させる。このカラムに水20 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムにa 抽出法で得られた溶液50 mLを注入した後、毎分約5 mLの流速で流出させ、流出液は捨てる。このカラムに水及びメタノールの混液（1：9）50 mLを注入した後、毎分約5 mLの流速で流出させ、流出液は捨てる。次いでメタノール10 mLを注入し、上記と同様に操作して、流出液は捨てる。このカラムの吸引装置を取り外した後、アンモニア水及びメタノールの混液（1：3）35 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、45℃以下でアンモニア及びメタノールを除去する。この残留物に水5 mLを加えて溶かす。

(2) 強塩基性陰イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィー

内径10 mm、長さ300 mmのクロマトグラフ管に、強塩基性陰イオン交換樹脂（粒径100～500 μm）2 mLを水に懸濁したものを入れ、カラムの上端に少量の水が残る程度まで水を流出させる。このカラムに水10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに(1) 強酸性陽イオン交換樹脂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、毎分約2 mLの流速で流出させ、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採る。次いで水10 mLを注入し、流出液をそのすり合わせ減圧濃縮器に合わせ、45℃以下で水を除去する。この残留物に水3 mLを加えて溶かす。

(3) オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

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を注入した後、水10 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、流出液は捨てる。次いでメタノール及び水の混液（1：19）3 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでメタノール及び水の混液（7：3）10 mLを注入する。流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、45℃以下でメタノール及び水を除去する。この残留物にアセトニトリル及び水の混液（98：2）を加えて溶かし、正確に2 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

カラム充填剤 アミノプロピ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4～4.6 mm、長さ250 mmのステンレス管を用いる。

検出器 波長215 nmで操作する。

移動相 アセトニトリル及び水の混液（98：2）を用いる。シロマジンが約10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

0.02 mg/kg

8. 留意事項

なし

9. 参考文献

なし

10. 類型

A