

## ビスピリバックナトリウム塩試験法

### 1. 分析対象化合物

ビスピリバックナトリウム塩

### 2. 装置

アルカリ熱イオン化検出器又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ及びガスクロマトグラフ・質量分析計を用いる。

### 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。

0.05 mol/Lリン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.05 mol/L リン酸水素一カリウム水溶液に0.05 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液を加えて、pHを7.4に調製する。

トリメチルシリルジアゾメタン溶液 トリメチルシリルジアゾメタンを約10%含むヘキサン溶液

### 4. 標準品

ビスピリバックナトリウム塩 本品はビスピリバックナトリウム塩99%以上を含む。

融点 本品の融点は223～224°Cである。

### 5. 試験溶液の調製

#### a 抽出法

検体を420 µmの標準網ふるいを通して粉砕した後、その10.0 gを量り採り、水20 mLを加え、2時間放置する。

これにアセトニトリル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、アセトニトリル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20 mLに濃縮する。

これをあらかじめ飽和塩化ナトリウム溶液5 mL、0.05 mol/Lリン酸緩衝液 (pH 7.4) 50 mL及び0.5 mol/L炭酸水素ナトリウム溶液50 mLを入れた300 mLの分液漏斗に移す。酢酸エチル50 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、酢酸エチル層を捨てる。水層に酢酸エチル50 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を捨てる。水層に5 mol/L塩酸を加え、pH 3に調整した後、酢酸エチル100 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を300 mLの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル100 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル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。次いで酢酸エチル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℃以下で酢酸エチルを除去する。この残留物にメタノール1 mLを加えて溶かす。

b メチル化

a 抽出法で得られた溶液に酢酸エチル1 mL及びトリメチルシリルジアゾメタン溶液0.5 mLを加え、栓をして室温で1時間放置した後、室温で窒素気流下で溶媒を除去する。この残留物に*n*-ヘキサン10 mLを加えて溶かす。

c 精製法

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*-ヘキサンに懸濁させたもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約5 gを入れ、カラム上端に*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b メチル化で得られた溶液を注入した後、酢酸エチル及び*n*-ヘキサンの混液（1:9）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（1:4）80 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。この残留物にアセトンを加えて溶かし、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。試験結果は標準品については5. 試験溶液の調製のb メチル化及びc 精製法と同様に操作して得られたものと一致しなければならない。

カラム 内径0.53 mm、長さ10~30 mのケイ酸ガラス製の細管に、ガスクロマトグラフィー用50%フェニル-メチルシリコンを0.1~1.5 μmの厚さでコーティングしたもの。

カラム温度 50℃で1分間保持し、その後毎分20℃で昇温し、230℃に到達後1分間保持し、次いで毎分5℃で昇温し、280℃に到達後10分間保持する。

試験溶液注入口温度 280℃

検出器 280℃で操作する。

ガス流量 キャリヤーガスとしてヘリウムを用いる。ビスピリバックナトリウム塩のメチル誘導体が約21分で流出する流速に調整する。空気及び水素の流量を至適条件に調整する。

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ガスクロマトグラフィー・質量分析を行う。試験結果は標準品について、5. 試験溶液の調製の b メチル化及び c 精製法と同様に操作して得られたもの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

0.01 mg/kg

8. 留意事項

なし

9. 参考文献

なし

10. 類型

A