

アゾキシストロピン、クミルロン及びシメコナゾール試験法（畜水産物）

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
アゾキシストロピン	アゾキシストロピン
クミルロン	クミルロン
シメコナゾール	シメコナゾール

2．装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）又は液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC/MS/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。

アゾキシストロピン標準品 本品はアゾキシストロピン 99%以上を含み、融点は 116～118 である。

クミルロン標準品 本品はクミルロン 99%以上を含み、融点は 167～168 である。

シメコナゾール標準品 本品はシメコナゾール 99%以上を含み、融点は 118～121 である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

筋肉、肝臓、腎臓、魚介類、乳、卵及びはちみつの場合は、試料 10.0 g を量り採る。脂肪の場合は、試料 5.00 g を量り採る。

これに 0.01 mol/L 塩酸 10 mL を加え、ホモジナイズした後、アセトニトリル 50 mL、*n*-ヘキサン 25 mL 及びケイソウ土 2 g を加え、さらにホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ液からアセトニトリル層を分取し、残った *n*-ヘキサン層及びろ紙上の残留物に 0.01 mol/L 塩酸 5 mL 及びアセトニトリル 25 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。*n*-ヘキサン層を捨て、得られたアセトニトリル層を合わせ、アセトニトリルを加え正確に 100 mL とする。

この抽出液 20 mL を採り、塩化ナトリウム 3 g を加え、5 分間振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。

2) 精製

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（1,000 mg）にアセトニトリル 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記のアセトニトリル層を注入し、さらに、アセトニトリル 2 mL を注入し、全溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン（1：1）混液 2 mL を加えて溶かす。

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）にメタノール 5 mL 次いでアセトン及び *n*-ヘキサン（1：1）混液 10 mL を順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに得られた溶液を注入し、さらに、アセトン及び *n*-ヘキサン（1：1）混液 20 mL を注入して、全溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をメタノールに溶解し、正確に 10 mL（脂肪の場合は 5 mL）としたものを試験溶液とする。

5．検量線の作成

各農薬の標準品について、それぞれのアセトニトリル溶液を調製し、それらを混合した後、0.002～0.04 mg/L（アゾキシストロピンの魚介類、乳及びはちみつの場合は 0.0016～0.04 mg/L）の各農薬を含むメタノール溶液を数点調製する。それぞれ 5 µL を LC/MS 又は LC/MS/MS 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 5 μ L を LC/MS 又は LC/MS/MS に注入し、5 の検量線で各農薬の含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS 又は LC/MS/MS により確認する。

8. 測定条件

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 3 ~ 3.5 μ m) 内径 2 ~ 2.1 mm、長さ 150 mm

カラム温度：40

移動相：A 液及び B 液について下の表の濃度勾配で送液する。

移動相流量：0.2 mL/分

A 液：5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液

B 液：5 mmol/L 酢酸アンモニウム含有メタノール溶液

時間(分)	A 液(%)	B 液(%)
0	85	15
1	60	40
3.5	60	40
6	50	50
8	45	55
17.5	5	95
30	5	95
30	85	15

注入量：5 μ L

保持時間の目安：アゾキシストロピン 15 分

クミルロン 16 分

シメコナゾール 18 分

イオン化モード：

1) LC/MS の場合

アゾキシストロピン及びクミルロン ESI (+)、シメコナゾール ESI (-)

2) LC/MS/MS の場合

ESI (+)

主なイオン (m/z):

1) LC/MS の場合

アゾキシストロピン 404、クミルロン 303、シメコナゾール 352

2) LC/MS/MS の場合

アゾキシストロピン；プリカーサーイオン 404、プロダクトイオン 372、172

クミルロン；プリカーサーイオン 303、プロダクトイオン 185、125

シメコナゾール；プリカーサーイオン 294、プロダクトイオン 73、70

9. 定量限界

アゾキシストロピン 0.01 mg/kg (魚介類、乳及びはちみつの場合は 0.008 mg/kg)

クミルロン 0.01 mg/kg

シメコナゾール 0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

アゾキシストロピン、クミルロン及びシメコナゾールを試料から塩酸、アセトニトリル及び n -

ヘキサンで抽出する。*n*-ヘキサンを分離後、塩析で水を除き、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、LC/MS 又は LC/MS/MS で定量し、LC/MS 又は LC/MS/MS で確認する方法である。

2) 注意点

シメコナゾールの LC/MS での測定は ESI (-), m/z : 352 (酢酸付加イオン) を選択しているが、ESI (+), m/z : 294 で測定してもよい。

LC/MS/MS で測定する場合はプロダクトイオンについて、アゾキシストロピンは m/z : 372 を定量イオン、 m/z : 172 を確認イオン、クミルロンは m/z : 185 を定量イオン、 m/z : 125 を確認イオン、シメコナゾールは m/z : 70 を定量イオン、 m/z : 73 を確認イオンとする。

11. 参考文献

なし

12. 類型

C

メタアルデヒド試験法（農産物）

1．分析対象化合物
メタアルデヒド

2．装置
ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/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。
グラファイトカーボンミニカラム（250 mg） 内径9 mmのポリエチレン製のカラム管に、グラファイトカーボン250 mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。
多孔性ケイソウ土カラム（5 mL保持用） 内径19~20 mmのポリエチレン製のカラム管に、5 mLを保持することができる量のカラムクロマトグラフィー用に製造した顆粒状多孔性ケイソウ土を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。
メタアルデヒド標準品 本品はメタアルデヒド97%以上を含み、融点は243~246（封管）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

試料10.0 gに水20 mLを加え、2時間放置する。これにアセトン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、アセトン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、アセトンを加え正確に200 mLとする。この20 mLに水1 mLを加え、40 以下で約3 mLまで濃縮する。

果実及び野菜の場合

試料20.0 gにアセトン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、アセトン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、アセトンを加え正確に200 mLとする。この10 mLに水2 mLを加え、40 以下で約3 mLまで濃縮する。

茶の場合

試料5.00 gに水20 mLを加え、2時間放置する。これにアセトン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、アセトン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、アセトンを加え正確に200 mLとする。この40 mLを40 以下で約4 mLまで濃縮する。

2) 精製

グラファイトカーボンミニカラム（250 mg）及び合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（900 mg）に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：9）混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。1)で得られた濃縮液を多孔性ケイソウ土カラムに注入し、10分間放置する。多孔性ケイソウ土カラムの下にグラファイトカーボンミニカラム及び合成ケイ酸マグネシウムミニカラムを接続する。酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：9）混液30 mLを注入し、溶出液を40 以下で約3 mLまで濃縮する。濃縮液に*n*-ヘキサンを加えて正確に5 mLとしたものを試験溶液とする。

5．検量線の作成

メタルデヒド標準品の0.002～0.04 mg/Lの *n*-ヘキサン溶液を数点調製し、それぞれ1 μLをGC/MS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1 μLをGC/MSに注入し、5の検量線でメタルデヒドの含量を求める。

7．確認試験

GC/MS又はGC/MS/MSにより確認する。

8．測定条件

GC/MS

カラム：6%シアノプロピルフェニル-メチルシリコン、内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚1.4 μm

カラム温度：50（1分）-30 /分-260（3分）

注入口温度：150

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード（電圧）：EI（70 eV）

主なイオン（*m/z*）：89、45

保持時間の目安：6分

9．定量限界

0.01 mg/kg

10．留意事項

1) 試験法の概要

メタルデヒドを試料からアセトンで抽出し、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合成ケイ酸マグネシウムミニカラムで精製した後、GC/MSで測定及び確認する方法である。

2) 注意点

(1) 濃縮時に揮散しやすいため、精製後の濃縮操作においては3 mL程度残すこと。

(2) GC/MS測定時、注入口温度を低めに設定することで感度が向上することから、注入口温度は150 に設定したほうがよい。

11．参考文献

なし

12．類型

C