

## アゾキシストロビン、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
アゾキシストロビン	アゾキシストロビン
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。

アゾキシストロビン標準品 本品はアゾキシストロビン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

### (1) 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。

### (2) 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(1)で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 (アゾキシストロビンの魚介類、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 µL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 µm) 、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  $\mu$ L

保持時間の目安：アゾキシストロビン 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

アゾキシストロビン及びクミルロン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

アゾキシストロビン404、クミルロン303、シメコナゾール352

2) LC/MS/MSの場合

アゾキシストロビン；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

アゾキシストロビン 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

アゾキシストロビン、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

(1) 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。

(2) LC/MS/MSで測定する場合はプロダクトイオンについて、アズキシストロビンは $m/z$ : 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