

イミシアホス試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

イミシアホス

2. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC-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。

0.5 mol/Lリン酸緩衝液（pH 7.0） リン酸水素二カリウム（ K_2HPO_4 ）52.7 g及びリン酸二水素カリウム（ KH_2PO_4 ）30.2 gを量り採り、水約500 mLに溶解し、1 mol/L水酸化ナトリウム溶液又は1 mol/L塩酸を用いてpHを7.0に調整した後、水を加えて1 Lとする。

イミシアホス標準品 本品はイミシアホス98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

[1] 穀類、豆類及び種実類の場合

試料10.0 gに水20 mLを加え、30分間放置する。

これにアセトニトリル50 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ニトリル20 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に100 mLとする。

抽出液20 mLを採り、塩化ナトリウム10 g及び0.5 mol/Lリン酸緩衝液（pH 7.0）20 mLを加え、10分間振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。

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を注入して、全溶出液を採り、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液2 mLを加えて溶かす。

[2] 果実、野菜、ハーブ、茶及びホップの場合

果実、野菜及びハーブの場合は、試料20.0 gを量り採る。茶及びホップの場合は、試料5.00 gに水20 mLを加え、30分間放置する。

これにアセトニトリル50 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ニトリル20 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に100 mLとする。

抽出液20 mLを採り、塩化ナトリウム10 g及び0.5 mol/Lリン酸緩衝液 (pH 7.0) 20 mLを加え、振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。アセトニトリル層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液2 mLを加えて溶かす。

2) 精製

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (500 mg/500 mg) に、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液10 mLを注入し、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た後、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液20 mLを注入し、全溶出液を40°C以下で1 mL以下に濃縮する。これにアセトン10 mLを加えて40°C以下で1 mL以下に濃縮し、再度アセトン5 mLを加えて濃縮し、溶媒を除去する。残留物をメタノールに溶かして、穀類、豆類及び種実類の場合は正確に4 mL、果実、野菜及びハーブの場合は正確に8 mL、茶及びホップの場合は正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

イミシアホス標準品の0.005~0.1 mg/L溶液 (メタノール) を数点調製し、それぞれ5 µLをLC-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に注入し、5の検量線でイミシアホスの含量を求める。

7. 確認試験

LC-MS又はLC-MS/MSにより確認する。

8. 測定条件

(例)

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2.1 mm、長さ150 mm、粒子径3.5 µm

カラム温度 : 40°C

移動相 : A液及びB液について下表の濃度勾配で送液する。

A液：5 mmol/L酢酸アンモニウム溶液

B液：5 mmol/L酢酸アンモニウム・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

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (m/z)：306, 305

保持時間の目安：14分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

イミシアホスを試料からアセトニトリルで抽出し、塩析で水を除いた後、果実、野菜等についてはそのまま、穀類、豆類及び種実類についてはオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製後、いずれもグラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製し、LC-MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

[1] 本法は「LC/MSによる農薬等の一斉試験法I（農産物）」に準拠したものである。

[2] イミシアホスのLC-MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

定量イオン (m/z)：305

定性イオン (m/z)：306

[3] LC-MS/MSを用いる場合の主なイオンの例を以下に示す。

プリカーサーイオン (m/z)：305

プロダクトイオン (m/z)：235、201

11. 参考文献

厚生労働省通知食安発第1129002号「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について（一部改正）」（平成17年11月29日）、「LC/MSによる農薬等の一斉試験法I（農産物）」

12. 類型

C