

イマザピック、イマザピル、イマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

イマザピック
イマザピル
イマザモックス
イマゼタピル

2. 適用食品

農産物

3. 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）

4. 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。

塩酸溶液 水500 mLに1 mol/L塩酸を加えて、pH 2.5に調整する。

イマザピック標準品 本品はイマザピック98%以上を含む。

イマザピル標準品 本品はイマザピル98%以上を含む。

イマザモックス標準品 本品はイマザモックス98%以上を含む。

イマゼタピル標準品 本品はイマゼタピル98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類、豆類、種実類及び茶の場合

試料10.0 g（茶の場合は5.00 g）を量り採り、水20 mLを加え、30分間放置する。これに0.02 mol/L塩酸及びメタノール（2：3）混液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0.02 mol/L塩酸及びメタノール（2：3）混液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、0.02 mol/L塩酸及びメタノール（2：3）混液を加えて正確に200 mLとする。この溶液を正確に20 mL分取し、40℃以下で濃縮し、メタノールを除去する。この溶液に塩酸溶液を加えて約20 mLとする。

② 果実及び野菜の場合

試料20.0 gに0.02 mol/L塩酸及びメタノール（2：3）混液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0.02 mol/L塩酸及びメタノール（2：3）混液50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液に0.02 mol/L塩酸及びメタノール（2：3）混液を加えて正確に200 mLとする。この溶液を正確に20 mL分

取し、40℃以下で濃縮し、メタノールを除去する。この溶液に塩酸溶液を加えて約20 mLとする。

2) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にメタノール及び塩酸溶液各5 mLを順次注入し、流出液は捨てる。ベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にメタノール及び塩酸溶液各5 mLを順次注入し、流出液は捨てる。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムに1) で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、塩酸溶液5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムの下部にベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラムを接続し、塩酸溶液及びメタノール (1 : 1) 混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムを除去した後、ベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラムにメタノール10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アンモニア水及びメタノール (1 : 49) 混液15 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を水及びメタノール (1 : 1) 混液に溶解し、果実及び野菜の場合は正確に20 mL、穀類、豆類及び種実類の場合は正確に10 mL、茶の場合は正確に5 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

イマザピック、イマザピル、イマザモックス及びイマゼタピルの各標準品をそれぞれメタノールに溶解して200 mg/Lとし標準原液とする。各標準原液を適宜混合して水及びメタノール (1 : 1) 混液で希釈した溶液を数点調製し、それぞれ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。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.01 mg/kgに相当する試験溶液中濃度は各化合物0.001 mg/L (イマザモックス及びイマゼタピルは、それぞれイマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩換算) である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS又はLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でイマザピック、イマザピル、イマザモックス及びイマゼタピルの各含量を求める。イマザモックス及びイマゼタピルについては、次式により、それぞれイマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩の含量を求める。

$$\begin{aligned} \text{イマザモックスアンモニウム塩の含量 (ppm)} &= \text{イマザモックスの含量 (ppm)} \times 1.056 \\ \text{イマゼタピルアンモニウム塩の含量 (ppm)} &= \text{イマゼタピルの含量 (ppm)} \times 1.059 \end{aligned}$$

8. 確認試験

LC-MS又はLC-MS/MSで確認する。

9. 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5 µm

カラム温度：40°C

移動相：0.1 vol%酢酸及び0.1 vol%酢酸・メタノール溶液混液（4：1）から（2：3）までの濃度勾配を20分間で行い、（2：3）で5分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）

LC-MS

イマザピック 276、イマザピル 262、イマザモックス 306、イマゼタピル 290

LC-MS/MS

イマザピック：プリカーサーイオン 276、プロダクトイオン 231、163

イマザピル：プリカーサーイオン 262、プロダクトイオン 217、149

イマザモックス：プリカーサーイオン 306、プロダクトイオン 261、193

イマゼタピル：プリカーサーイオン 290、プロダクトイオン 245、177

注入量：5 µL

保持時間の目安：イマザピック 19分、イマザピル 14分、イマザモックス 18分、イマゼタピル 23分

10. 定量限界

各化合物 0.01 mg/kg（イマザモックス及びイマゼタピルは、それぞれイマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩換算）

11. 留意事項

1) 試験法の概要

イマザピック、イマザピル、イマザモックス及びイマゼタピルを試料から0.02 mol/L塩酸及びメタノールの混液で抽出し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラムの連結カラムで精製した後、LC-MS又はLC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

なお、イマザモックス及びイマゼタピルについては、それぞれの含量に換算係数を乗じて、イマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩の含量に変換し、これらを分析値とする。

2) 注意点

① LC-MS測定での定性イオンについて

当該検討条件におけるLC-MS測定では、主なイオンに示した各農薬のプロトン付加分子以外には、いずれもナトリウムイオン付加分子が主に検出され、適切な定性イオンは認められなかった。

② LC-MS/MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

イマザピック（*m/z*）

定量イオン：プリカーサーイオン 276、プロダクトイオン 163

定性イオン：プリカーサーイオン 276、プロダクトイオン 231

イマザピル（*m/z*）

定量イオン：プリカーサーイオン 262、プロダクトイオン 217

定性イオン：プリカーサーイオン 262、プロダクトイオン 149

イマザモックス (m/z)

定量イオン：プリカーサーイオン 306、プロダクトイオン 261

定性イオン：プリカーサーイオン 306、プロダクトイオン 193

イマゼタピル (m/z)

定量イオン：プリカーサーイオン 290、プロダクトイオン 245

定性イオン：プリカーサーイオン 290、プロダクトイオン 177

- ③ 試験法開発時に検討した食品：玄米、大豆、ばれいしょ、だいこんの根、だいこんの葉、キャベツ、ねぎ、トマト、ほうれんそう、オレンジ、りんご、いちご、ぶどう、棉実及び茶

12. 参考文献

厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第0124001号「イマザモックスアンモニウム塩試験法（農産物）」（平成17年1月24日）

13. 類型

C