

チオキサザフェン分析法（農産物）

1. 分析対象化合物

- ・チオキサザフェン及び代謝物 TX2（ベンズアミジン）

2. 装置

チオキサザフェン：ガスクロマトグラフ・タンデム型質量分析計（GC-MS/MS）
代謝物 TX2（ベンズアミジン）：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

トルエン	:	ACS
アセトニトリル、メタノール、水	:	HPLC 用
ギ酸アンモニウム	:	> 95%
チオキサザフェン及び代謝物 TX2 （ベンズアミジン）	:	分析用標準品
96-ウェルプレート用ガラス製遠 沈管	:	1.1 mL 及び 1.4 mL
96-ウェルプレート用ポリプロピ レン製遠沈管	:	1.4 mL
96-ウェルプレート	:	1 mL、丸型ウェル、U 底、ポリプ ロピレン

4. 試験溶液の調製

- ・チオキサザフェン

1) 抽出

試料採取量 50.0 mg で再現性のある分析が可能となるように、予め均一化した試料を液体窒素下で凍結粉碎装置（SPEX 6870 Freezer/Mill®等）を用いて再均一化する。

① だいず等の豆類の子実、棉種子、玄麦等を除く

再均一化した試料 50.0 mg を 96-ウェルプレート用ガラス製遠沈管に秤り取り、そこにトルエン 0.1 mL を加えた後、水 0.1 mL を加える。次いで、安定同位体標識内部標準のトルエン溶液 0.4 mL を加えた後、30 分間高速振とう抽出する。遠心分離後、トルエン層を 96-ウェルプレートに分取する。

② だいず等の豆類の子実、棉種子、玄麦等

再均一化した試料 50.0 mg を 96-ウェルプレート用ガラス製遠沈管に秤り取り、そこに 65%アセトニトリル 0.1 mL を加える。次いで、安定同位体標識内部標準の 65%アセトニトリル溶液 0.4 mL を加えた後、30 分間高速振とう抽出する。遠心分離後、上清 0.2 mL を新たな 96-ウェルプレート用ガラス製遠沈管に分取する。

2) 精製

①だいず等の豆類の子実、棉種子、玄麦等を除く実施せず。

②だいず等の豆類の子実、棉種子、玄麦等

上清 0.2 mL を分取した 96-ウェルプレート用ガラス製遠沈管にトルエン 0.2 mL を加え、2 分間高速振とう抽出する。遠心分離後、トルエン層を 96-ウェルプレートに分取する。

5. 検量線の作成

・チオキサザフェン

チオキサザフェン標準品をトルエンに溶解し、0.50 mg/mL の標準溶液を調製する。調製した標準液をトルエンで段階的に希釈して、検量線用の標準液を数点調製し、それぞれ GC-MS/MS に注入して、ピーク面積を測定し、横軸に重量、縦軸にピーク面積をとって、検量線を作成する。

6. 定量

・チオキサザフェン

試験溶液を GC-MS/MS に注入し、5 の検量線を用いて定量する。

7. 測定条件

・チオキサザフェン

カラム : DB-17 MS (30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μm、Agilent 製)

温度 : 注入口 : 250°C
MS トランスファーライン : 300°C
オープン :

時間 (min)	昇温速度 (°C/min)	初期温度 (°C)	最終温度 (°C)
0-1.0	0	90	90
1.0-6.25	40	90	300
6.25-7.75	10	300	315
7.75-12.75	0	315	315

キャリアーガス : ヘリウム、1.0 mL/min
及び流量

注入量 : 0.50 μL

保持時間の目安 : チオキサザフェン : 6.9 分

イオン化モード : EI

モニタリング
イオン :

	プレカーサー イオン (<i>m/z</i>)	プロダクトイ オン (<i>m/z</i>)
チオキサザフェン	228	119
安定同位体標識	234	125

4. 試験溶液の調製

- 代謝物 TX2 (ベンズアミジン)

1) 抽出

再均一化した試料 75.0 mg を 96-ウェルプレート用ポリプロピレン製遠沈管に量りこみ、そこに 50%アセトニトリル 0.075 mL を加える。次いで、安定同位体標識内部標準の 50%アセトニトリル溶液 0.675 mL を加えた後、30 分間高速振とう抽出する。遠心分離後、抽出液 0.05 mL を 96-ウェルプレートに分取する。

2) 精製

抽出液を分取した 96-ウェルプレートに 0.7 mL の希釈用溶媒 (10 mM ギ酸アンモニウムの 95%アセトニトリル溶液) を加える。

5. 検量線の作成

- 代謝物 TX2 (ベンズアミジン)

代謝物 TX2 (ベンズアミジン) 標準品を 50%アセトニトリルに溶解し、0.526 mg/mL の標準溶液を調製する。調製した標準液を 50%アセトニトリルで段階的に希釈して、検量線用の標準液を数点調製し、それぞれ LC-MS/MS に注入して、ピーク面積を測定し、横軸に重量、縦軸にピーク面積をとって、検量線を作成する。

6. 定量

- 代謝物 TX2 (ベンズアミジン)

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、5 の検量線を用いて定量する。

7. 測定条件

- 代謝物 TX2 (ベンズアミジン)

カラム : Ascentis Express HILIC Column (Supelco 製)
(50 mm、内径 2.1 mm、2.7 μm)

カラム温度 : 40 °C

移動相及び流量 : 移動相A: 50 mM ギ酸アンモニウムの 50%メタノール溶液
移動相 B: 10 mM ギ酸アンモニウムの 90%アセトニトリル溶液

時間 (min)	移動相 B 溶液 (%)	流量 (mL/min)
0-0.5	100	0.400
0.5-1.69	100	0.400
1.7-1.8	100	0.400
1.8-4.1	0	1.00
4.2-7.0	100	1.00
7.1-8.0	100	0.400

注入量 : 5 μ L
 保持時間の目安 : 代謝物 TX2 (ベンズアミジン) : 1.4 分
 イオン化モード : ESI (+)
 モニタリング :
 イオン :

	プレカーサー イオン (<i>m/z</i>)	プロダク トイオン (<i>m/z</i>)
代謝物 TX2 (ベンズアミジン)	121.1	104.0
安定同位体標識	127.1	110.0

8. 定量限界

チオキサザフェン : 0.0025 mg/kg

代謝物 TX2 (ベンズアミジン) : 0.0025 mg/kg (チオキサザフェン換算)

9. 留意事項

なし

※ 本分析法は、農作物における残留試験等において用いられた残留農薬等分析法であり、新たな試験法の開発等に際して参考として下さい。なお、当該分析法をもとに開発した試験法を食品規格への適合判定のために使用する場合には、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について（平成 22 年 12 月 24 日薬食発 1224 第 1 号）」に従って使用する試験法の妥当性を評価する必要があります。