

ニタルソン及びロキササルソン試験法

1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

ギ酸 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (500mg) 内径 12~13mm のポリエチレン製のカラム管に、ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体 500mg を充填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。

ジヘキシルアンモニウム酢酸塩試液 約 0.5mol/L ジヘキシルアンモニウム酢酸塩溶液を水で 100 倍希釈する。

トリメチルアンモニウム塩修飾メタクリレート重合体ミニカラム (500mg) 内径 12~13mm のポリエチレン製のカラム管に、トリメチルアンモニウム塩修飾メタクリレート重合体 500mg を充填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。

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 (500mg) 内径 8~9mm のポリエチレン製のカラム管に、ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲル 500mg を充填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。

水 蒸留水、精製水、純水等の化学分析に適したものを用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、*n*-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

メタノール 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

3. 標準品

ニタルソン標準品 本品はニタルソン 97%以上を含む。

ロキササルソン標準品 本品はロキササルソン 98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び乳の場合

試料 10.0 g にアンモニア水、水及びメタノールの混液 (1 : 3 : 16) 50mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 3,500 回転で 10 分間遠心分離する。上澄液を採り、残留物にアンモニア水、水及びメタノールの混液 (1 : 3 : 16) 40mL を加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離する。上澄液を採り、先の上澄液と合わせ、メタノールを加えて正確に 100mL とする。この溶液から正確に 10mL を分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアンモニア水及び水の混液 (1 : 19) 5 mL を加えて溶かす。

② 卵の場合

試料 10.0 g にアンモニア水、水及びメタノールの混液 (1 : 1 : 18) 50mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 3,500 回転で 10 分間遠心分離する。上澄液を採り、残留物にアンモニア水、水及びメタノールの混液 (1 : 1 : 18) 40mL を加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離する。上澄液を採り、先の上澄液と合わせ、メタノールを加えて正確に 100mL とする。この溶液から

正確に 10mL を分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアンモニア水及び水の混液（1：19）5 mL を加えて溶かす。

b 精製法

トリメチルアンモニウム塩修飾メタクリレート重合体ミニカラム（500mg）にメタノール 5 mL、アンモニア水及び水の混液（1：19）5 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。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（500mg）にメタノール 5 mL、ギ酸及び水の混液（1：9）5 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（500mg）にメタノール 5 mL、ギ酸及び水の混液（1：9）5 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。トリメチルアンモニウム塩修飾メタクリレート重合体ミニカラムに、a 抽出法で得られた溶液を注入した後、メタノール 5 mL、水 5 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。トリメチルアンモニウム塩修飾メタクリレート重合体ミニ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、更にその下部にジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムを接続した後、ギ酸及び水の混液（1：9）15mL を注入し、流出液は捨てる。トリメチルアンモニウム塩修飾メタクリレート重合体ミニカラムを取り外した後、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ギ酸及び水の混液（1：9）2 mL を注入し、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を取り外した後、ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムに水 10mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、メタノール 10mL を注入し、溶出液を 40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル、ギ酸及びジヘキシルアンモニウム酢酸塩試液の混液（1：2：7）に溶かし、正確に 1 mL としたものを試験溶液とする。

5. 操作法

a 検量線の作成

ニタルソン及びロキサソンをそれぞれメタノールに溶かして標準原液を調製する。各標準原液を適宜混合し、アセトニトリル、ギ酸及びジヘキシルアンモニウム酢酸塩試液の混液（1：2：7）で希釈した溶液を数点調製する。それぞれ液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、4. 試験溶液の調製に従って試験溶液を調製した場合には、試料中 0.002mg/kg に相当する試験溶液中の濃度は 0.002mg/L である。

b 定量試験

試験溶液を液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計に注入し、a 検量線の作成によりニタルソン及びロキサソンの定量を行う。

c 確認試験

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計により確認する。

d 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 2mm、長さ 150mm、粒子径 3 μm

カラム温度：40℃に保持する。

移動相：0.02vol%酢酸・アセトニトリル及びジヘキシルアンモニウム酢酸塩試液の混液（1：9）

で 5 分間保持した後、（1：9）から（1：1）までの濃度勾配を 10 分間で行う。

イオン化モード：エレクトロスプレーイオン化法 ネガティブイオンモード

主なイオン (m/z) :

ニタルソン プリカーサーイオン 246、プロダクトイオン 138、108

ロキサルソン プリカーサーイオン 262、プロダクトイオン 153、123

注入量：5 μ L

保持時間の目安：

ニタルソン 11分

ロキサルソン 12分