

## LC/MS による農薬等の一斉試験法 II (農産物)

### 1. 分析対象化合物

別表参照

### 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。

各農薬等標準品 各農薬等の純度が明らかなもの。

### 4. 試験溶液調製法

#### 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、15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0.01 mol/L塩酸20 mLを加え、15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。残留物にアセトン、トリエチルアミン及び*n*-ヘキサン (20 : 0.5 : 80) 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、15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0.01 mol/L塩酸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℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトン、トリエチルアミン及び*n*-ヘキサン (20 : 0.5 : 80) 混液2 mLを加えて溶かす。

## 2) 精製

シリカゲルミニカラム (500 mg) に、メタノール、アセトン各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。さらに*n*-ヘキサン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、アセトン、トリエチルアミン及び*n*-ヘキサン (20 : 0.5 : 80) 混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン及びメタノール (1 : 1) 混液2 mLで1) で得られた溶液が入っていた容器を洗い、洗液をシリカゲルミニカラムに注入し、さらにアセトン及びメタノール (1 : 1) 混液18 mLを注入し、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かして、正確に4 mLとしたものを試験溶液とする。

## 5. 検量線の作成

各農薬等の標準品について、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、適切な濃度範囲の各農薬等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の検量線で各農薬等の含量を求める。

## 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：0.20 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 ( $m/z$ )：別表参照

保持時間の目安：別表参照

## 9. 定量限界

別表参照

ただし、別表は測定限界 (ng) の例を示したものである。

## 10. 留意事項

### 1) 試験法の概要

各農薬等を試料からアセトニトリルで抽出し、酸性条件下で塩析する。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、いずれもシリカゲルミニカラムで精製し、LC/MS 又はLC/MS/MSで測定及び確認する方法である。

### 2) 注意点

- (1) 別表は本法を適用できる化合物を五十音順に示したものであるが、規制対象となる品目には本法を適用できない代謝物等の化合物が含まれる場合があるので留意すること。また、保持時間の異なる異性体は、化合物名欄に個別に示した。
- (2) 本試験法は別表に示した全ての化合物の同時分析を保証したものではない。化合物同士の相互作用による分解等及び測定への干渉等のおそれがあるため、分析対象とする化合物の組み合わせにおいてあらかじめこれらの点を検証する必要がある。
- (3) アセトニトリル抽出液に添加する塩化ナトリウム (10 g) が多すぎる場合は、減らしてもよいが、十分に飽和する量を加える。また、極性が高い農薬を対象とするため、十分に振とうして塩化ナトリウムを溶解させる。
- (4) 濃縮し、溶媒を完全に除去する操作は、窒素気流を用いて穏やかに行う。

- (5) アセトン、トリエチルアミン及び*n*-ヘキサン (20 : 0.5 : 80) 混液に溶けにくい農薬があるため、シリカゲルミニカラムによる精製においては洗浄操作の後、溶出溶媒であるアセトン及びメタノール (1 : 1) 混液2 mLでカラムに洗い込む。
- (6) LC/MS 又はLC/MS/MSの感度によっては、試験溶液をさらにメタノールで希釈する。
- (7) 特にメタノール溶液中では不安定な農薬等があるため、測定は試験溶液の調製後速やかに行う。検量線用溶液は用時調製する。常温のオートサンプラーラック中に試験溶液を長時間置かない。
- (8) 正確な測定値を得るためには、マトリックス添加標準溶液又は標準添加法を用いることが必要な場合がある。
- (9) 定量限界は、使用する機器、試験溶液の濃縮倍率及び試験溶液注入量により異なるので、必要に応じて最適条件を検討する。

## 11. 参考文献

なし

## 12. 類型

C

(別表)LC/MSによる農薬等の一斉試験法II(農産物)

品目名	分析対象化合物名	相対保持時間	LC/MS 測定イオン(m/z)				LC/MS/MS 測定イオン(m/z)								測定限界(ng)					
			ポジティブ測定		ネガティブ測定		ポジティブ測定				ネガティブ測定				LC/MS	LC/MS/MS				
			定量	定性	定量	定性	プリカーサー	プロダクト(定量)	プロダクト(定性)	プリカーサー	プロダクト(定量)	プロダクト(定性)								
2,4-D	2,4-D	0.73			-161		-163												0.025	0.15
MCPA	MCPA	0.73			-141		-199												0.007	0.118
MCPB	MCPB	0.97			-227	-141													0.278	0.012
アイオキシニル	アイオキシニル	0.73			-370	-126													0.001	0.003
アシフルオルフェン	アシフルオルフェン	1.04			-360	-316													0.031	0.023
アジムスルフロ	アジムスルフロ	0.52			-423		-424	425		182		139							0.116	0.005
イオドスルフロ	イオドスルフロ	0.72	508	509				508		167		508							0.011	0.004
イマザキン	イマザキン	0.54	312	267				312		267	199	128	86						0.001	0.001
イマゾスルフロ	イマゾスルフロ	0.54			-411	-413		415		156		78							0.017	0.079
エタメツルフロ	エタメツルフロ	0.66	411	412				411		196		168							0.001	0.003
エトキシスルフロ	エトキシスルフロ	0.83	399	400				399		261		218							0.002	0.002
クロジナホップ	クロジナホップ	0.9			-310		-238	312		266		238							0.007	0.016
クロフェンセット	クロフェンセット	0.6	279	261				279		261		166							0.004	0.024
クロプロップ	クロプロップ	0.64			-199	-127													0.088	0.023
クロラズラム	クロラズラム	0.81	430	398				430		398	370	153							0.008	0.006
クロリムロン	クロリムロン	0.8			-413		-415	415		186		83							0.018	0.003
クロルスルフロ	クロルスルフロ	0.55	358	360				358		141		167							0.008	0.005
4-クロロフェノキシ酢酸	4-クロロフェノキシ酢酸	0.55			-185	-127													0.117	0.011
シクラニド	シクラニド	0.92			-272	-160													0.005	0.002
ジクロスラム	ジクロスラム	0.84	406	161				406		161		378							0.017	0.003
シクロスルファミロン	シクロスルファミロン	0.99	422	444				422		261	139	218	69	-420	-265		-78		0.008	0.002
ジクロメジン	ジクロメジン	1.21	255	257				257	255	140	89	158	75	-253	-182		-40		0.255	0.087
ジクロプロップ	ジクロプロップ	0.86			-233	-161													0.057	0.012
シノスルフロ	シノスルフロ	0.48	414	436				414		183		157	83	-412	-154		-66		0.011	0.002
ジベレリン	ジベレリン	0.48			-345	-143													0.066	0.055
スルフェントラゾン	スルフェントラゾン	0.85			-387		-385	387		307		146							0.017	0.146
スルホスルフロ	スルホスルフロ	0.59			-469		-470	471		211		261							0.001	0.007
チジアズロン	チジアズロン	0.84			-219	-100		221		102		128							0.002	0.002
チフェンスルフロ	チフェンスルフロ	0.5	388	167				388		167		126	56						0.013	0.001
トリアスルフロ	トリアスルフロ	0.62	402	404				402		167		141							0.008	0.009
トリクロピル	トリクロピル	0.81			-254	-196													0.132	0.006
トリフルスルフロ	トリフルスルフロ	0.92	493	264				493		264		96							0.005	0.001
トリフロキシスルフロ	トリフロキシスルフロ	0.72			-436		-437	438		182		257							0.007	0.003
トリベスロン	トリベスロン	0.56	396	418				396		181	155	364		-394	-153		-55		0.058	0.003
ナブタラム	ナブタラム	0.66			-290	-246		292		144		149							0.02	0.016
1-ナフタレン酢酸	1-ナフタレン酢酸	0.63			-185	-141													0.486	0.073
ハロキシホップ	ハロキシホップ	1.08	362	316				362		316		288	91						0.01	0.002
ハロスルフロ	ハロスルフロ	0.69			-433	-435		435		182		83							0.02	0.005
ピラソスルフロ	ピラソスルフロ	0.66	415	437				415		182	181	139	83	-413	-154		-232		0.029	0.002
フェンヘキサミド	フェンヘキサミド	1.18	302	304				302		97	96	55							0.037	0.005
フラザスルフロ	フラザスルフロ	0.54	408	430				408		182	181	227	139	-406	-154		-251		0.011	0.001
プリミスルフロ	プリミスルフロ	0.93			-467			491		264		250							0.009	0.008
フルアジホップ	フルアジホップ	0.91	328	350				328		283	282	255	254	-326	-254		-206		0.027	0.023
フルメツラム	フルメツラム	0.44	326	129				326		129		326	109						0.008	0.005
フルロキシピル	フルロキシピル	0.48			-253	-195													0.421	0.116
プロスルフロ	プロスルフロ	0.84			-418			420		167		141							0.009	0.006
プロボキシカルバゾンNa塩	プロボキシカルバゾンNa塩	0.55	399	416				421	399	180	115	264	134	-397	-156		-113		0.047	0.007
プロモキシニル	プロモキシニル	0.57			-276	-79													0.002	0.011
フロラスラム	フロラスラム	0.55	360	129				360		129		360	82						0.012	0.003
ベノキスラム	ベノキスラム	0.73			-482			484		195		164							0.01	-
ベンスルフロ	ベンスルフロ	0.91	411	433				433	411	179	148	278	181	-409	-154		-254		0.009	0.004
ホメサフェン	ホメサフェン	1.04			-437	-195													0.008	0.005
ホラムスルフロ	ホラムスルフロ	0.51	453	475				453		182		254	83	-451	-296		-267		0.068	0.005
ホルクロルフェニユロン	ホルクロルフェニユロン	1	248	129				248		129		93							0.004	0.001
メコプロップ	メコプロップ(MCPP)	0.85			-213	-141													0.028	0.005
	メコプロップ(MCPP-P)	0.85			-213	-141													-	0.036
メソスルフロ	メソスルフロ	0.59	504	526				504		182		306	83	-502	-267		-347		0.066	0.003
メトスラム	メトスラム	0.73	418	420				420	418	176	174	189	140	-416	-179		-66		0.017	0.004
メトスルフロ	メトスルフロ	0.43	382	404				382		168	167	198	57	-380	-139		-107		0.015	0.047

◎ 化合物名の五十音順に示した。

◎ 相対保持時間はイソキサフルトール(保持時間15-18分)を1とした相対値であり、2~5測定環境(カラムの種類、移動相、流速、温度等の測定条件は同一で装置が異なる)での平均値を示した。

◎ 測定イオンの太字斜字体は定量イオン、その他は定性イオンを示す。

◎ 測定限界は標準溶液をLC/MSまたはLC/MS/MSに注入したときのS/N=10の値であり、1機種で求めた値または2機種で求めた値の中で小さい方の値を示した。

◎ 測定イオンとしてポジティブイオンとネガティブイオンの両方を示した農薬については、双方のうち小さい方の値を測定限界とした。

◎ 本法に従って果実又は野菜について試験溶液を調製し、5μLをLC/MS(/MS)に注入した場合、測定限界0.05ngが試料中0.01ppmに相当する。