

イソチアニル及びプロスルホカルブ試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
イソチアニル	イソチアニル
プロスルホカルブ	プロスルホカルブ

2. 適用食品

農産物

3. 装置

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。

イソチアニル標準品 本品はイソチアニル 99%以上を含む。

プロスルホカルブ標準品 本品はプロスルホカルブ 98%以上を含む。

5. 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。これにアセトン 100 mL を加えてホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン 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、アセトンを加えて正確に 200 mL とする。この溶液から正確に 20 mL を分取し、40℃以下で約 5 mL に濃縮する。これに 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、*n*-ヘキサン 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。

抽出液を合わせ、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。この残留物に *n*-ヘキサン 30 mL を加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL ずつで 3 回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 2 mL を加えて溶かす。

② 果実及び野菜の場合

試料 20.0 g にアセトン 100 mL を加えてホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン 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、アセトンを加えて正確に 200 mL とする。この溶液から正確に 10 mL を分取し、40℃以下で約 5 mL に濃縮する。これに 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、*n*-ヘキサン 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。

抽出液を合わせ、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。この残留物に *n*-ヘキサン 30 mL を加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL ずつで 3 回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 2 mL を加えて溶かす。

③ 茶の場合

試料 5.00 g に水 20 mL を加えて 30 分間放置する。これにアセトン 100 mL を加えてホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン 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、アセトンを加えて正確に 200 mL とする。この溶液から正確に 40 mL を分取し、40°C 以下で約 5 mL に濃縮する。これに 10 w/v% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、*n*-ヘキサン 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。

抽出液を合わせ、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。この残留物に *n*-ヘキサン 30 mL を加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL ずつで 3 回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 2 mL を加えて溶かす。

2) 精製

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (910 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 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、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 15 mL を注入し、全溶出液を採り、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶解し、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

イソチアニル標準品及びプロスルホカルブ標準品をそれぞれアセトニトリルに溶解して 1 mg/mL とし、標準原液とする。各標準原液を適宜混合してメタノールで希釈した溶液を数点調製し、それぞれ 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イソチアニル及びプロスルホカルブともに 0.002 mg/L である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. の検量線でイソチアニル又はプロスルホカルブの含量を求める。

8. 確認試験

LC-MS/MS により確認する。

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 3 µm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び 0.1 vol% ギ酸の混液 (1 : 1) から (99 : 1) までの濃度勾配を 15 分間で行い、(99 : 1) で 10 分間保持する。

イオン化モード

イソチアニル：ESI (-)

プロスルホカルブ：ESI (+)

主なイオン (*m/z*)

イソチアニル：プリカーサーイオン 296、プロダクトイオン 152

プリカーサーイオン 298、プロダクトイオン 154

プロスルホカルブ：プリカーサーイオン 252、プロダクトイオン 128、91

注入量：5 μ L

保持時間の目安

イソチアニル：7分

プロスルホカルブ：12分

10. 定量限界

イソチアニル 0.01 mg/kg

プロスルホカルブ 0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

イソチアニル及びプロスルホカルブを試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、合成ケイ酸マグネシウムミニカラムで精製し、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① イソチアニル及びプロスルホカルブの 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。

イソチアニル

定量イオン (*m/z*)：プリカーサーイオン 296、プロダクトイオン 152

定性イオン (*m/z*)：プリカーサーイオン 298、プロダクトイオン 154

プロスルホカルブ

定量イオン (*m/z*)：プリカーサーイオン 252、プロダクトイオン 91

定性イオン (*m/z*)：プリカーサーイオン 252、プロダクトイオン 128

- ② アセトニトリル/ヘキサン分配は、果実、野菜、ハーブ及び茶等の脂肪含量の少ない試料においては、妨害ピーク等の測定影響が観察されなければ省略することができる。
- ③ 試験法開発時に検討した食品：玄米、大豆、らっかせい、ばれいしょ、キャベツ、ほうれんそう、オレンジ、りんご、茶及びコリアンダーの種子

12. 参考文献

なし

13. 類型

C