

イミダクロプリド試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

イミダクロプリド

6-クロロピリジル基を有する代謝物（酸化反応により6-クロロニコチン酸に変換される化合物を含む。）

2. 適用食品

畜水産物

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。

イミダクロプリド標準品 本品はイミダクロプリド 98%以上を含む。

6-クロロニコチン酸標準品 本品は6-クロロニコチン酸 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 g（脂肪の場合は5.00 g）に*n*-ヘキサン50 mL並びに水及びメタノール（1：3）混液100 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分3,000回転で5分間遠心分離を行う。メタノール層を採り、*n*-ヘキサン層及び残留物に水及びメタノール（1：3）混液50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離し、得られた水及びメタノール（1：3）混液層を合わせて、水及びメタノール（1：3）混液で正確に200 mLとする。この溶液から正確に5 mL（はちみつは2 mL、脂肪は10 mL）を分取し、40°C以下で約1 mLまで濃縮する。

2) 酸化

1) で得られた溶液に32 w/v%水酸化ナトリウム溶液5 mL及び5 w/v%過マンガン酸カリウム溶液50 mLを加え、空冷管を付けて120°Cの油浴中で15分間加熱し、イミダクロプリド及び6-クロロピリジル基を有する代謝物を6-クロロニコチン酸に酸化する。加熱還流操作後、冷水で冷やししながら水50 mL、10 v/v%硫酸50 mL及び亜硫酸水素ナトリウム5 gを加え酸化反応を終了させた後、酢酸エチル100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、抽出液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、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を0.1 vol%酢酸及びメタノール（9：1）混液に溶かし、正確に2.5 mL（はちみつの場合は1 mL）としたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

6-クロロニコチン酸標準品をアセトンに溶かして標準原液とする。標準原液を0.1 vol%酢酸及びメタノール（9：1）混液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（イミダクロプリド換算）に相当する試験溶液中濃度は0.001 mg/L（イミダクロプリド換算）である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線で6-クロロニコチン酸の含量を求め、次式によりイミダクロプリド（6-クロロピリジル基を有する代謝物を含む。）の含量を求める。

$$\begin{aligned} & \text{イミダクロプリド（6-クロロピリジル基を有する代謝物を含む。）の含量（ppm）} \\ & = A \times 1.623 \end{aligned}$$

A : 6-クロロニコチン酸の含量（ppm）

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250 mm、粒子径3 μm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び0.1 vol%酢酸混液（1：9）から（9：1）までの濃度勾配を10分間で行い（9：1）で5分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）：プリカーサーイオン 158、プロダクトイオン 122、78

注入量：10 μL

保持時間の目安：9分

10. 定量限界

0.01 mg/kg（イミダクロプリド換算）

11. 留意事項

1) 試験法の概要

イミダクロプリド及び6-クロロピリジル基を有する代謝物を試料から*n*-ヘキサン存在下水及びメタノール（1：3）混液を用いて抽出する。塩基性条件下で過マンガン酸カリウム溶液を用いて加熱還流を行い、イミダクロプリド及び6-クロロピリジル基を有する代謝物を6-クロロニコチン酸に酸化し、酢酸エチルで抽出した後、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。なお、6-クロロニコチン酸について定量を行い、6-クロロニコチン酸の含量に換算係数を乗じてイミダクロプリド（6-クロロピリジル基を有する代謝物を含む。）含量に変換したものを分析値とする。

2) 注意点

- ① 酸化反応については、イミダクロプリド標準品を用いて、酸化反応が十分に行われていることを確認すること。なお、加熱還流時間が長いと6-クロロニコ

チン酸が減少するため、反応時間に留意する。

- ② 6-クロロニコチン酸の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。

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 158、プロダクトイオン 122

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 158、プロダクトイオン 78

- ③ 試験法開発に検討した食品：牛の筋肉・脂肪・肝臓・乳、鶏の筋肉・卵、はちみつ、うなぎ、さけ及びしじみ

12. 参考文献

なし

13. 類型

C