

アミトロール試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

アミトロール

2. 適用食品

穀類、豆類、種実類及び果実

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。

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（150 mg）内径12~13mmのポリエチレン製のカラム管に、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体150mg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。

アミトロール標準品 本品はアミトロール 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10.0g（茶は5.00g）に水20mLを加え、30分間放置する。これにメタノール100mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にメタノール50mL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、メタノールで正確に200mLとする。この溶液から正確に8mLを分取し、2 vol%ギ酸10mLを加える。

② 果実及び野菜の場合

試料20.0gにメタノール100mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にメタノール50mL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、メタノールで正確に200mLとする。この溶液から正確に8mLを分取し、2 vol%ギ酸10mLを加える。

2) 精製

① 穀類、豆類及び種実類の場合

a) スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体カラムク

ロマトグラフィー

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (150mg) に、メタノール及び2 vol%ギ酸各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液を注入した後、水5 mL及びメタノール10mLを注入し、各流出液を捨てる。次いで、アンモニア水及びメタノール (1 : 99) 混液5 mLを注入し、溶出液を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1 mLに溶かした後、酢酸エチル4 mLを加える。

b) アミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (360mg) に、酢酸エチル及びメタノール (4 : 1) 混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムにa) で得られた溶液を注入した後、酢酸エチル及びメタノール (4 : 1) 混液10mLを注入し、溶出液を40°C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及びメタノール (3 : 1) 混液に溶かし、正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

② 果実及び野菜の場合

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (150mg) に、メタノール及び2 vol%ギ酸各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液を注入した後、水5 mL及びメタノール10mLを注入し、各流出液を捨てる。次いで、アンモニア水及びメタノール (1 : 99) 混液5 mLを注入し、溶出液を40°C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及びメタノール (3 : 1) 混液に溶かし、正確に4 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

アミトロール標準品のアセトニトリル及びメタノール (3 : 1) 混液の溶液を数点調製し、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0.01mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.002mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6の検量線でアミトロールの含量を求める。

8. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

9. 測定条件

(例)

カラム：シリカゲル 内径2.1mm、長さ150mm、粒子径 5 μ m

カラム温度：40℃

移動相：10mmol/L酢酸アンモニウム含有アセトニトリル及び水（19：1）混液

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン (m/z)：プリカーサーイオン 85、プロダクトイオン 57、43

注入量：10 μ L

保持時間の目安：4分

10. 定量限界

0.01mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

アミトロールを試料からメタノールを用いて抽出し、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製する。穀類、豆類及び種実類は、さらにアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

① アミトロールの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 85、プロダクトイオン 57

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 85、プロダクトイオン 43

② 試験法開発に検討した食品：りんご、うめ、ぶどう、小麦及びなたね

12. 参考文献

なし

13. 類型

C