

ジニコナゾール試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

ジニコナゾール

2. 装置

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。

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（1,000 mg） 内径 12～13 mm のポリエチレン製のカラム管に、合成ケイ酸マグネシウム 1,000 mg を充てん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。

ジニコナゾール標準品 本品はジニコナゾール 98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 果実及び野菜の場合

試料 20.0 g にアセトン 100 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て 40℃以下で約 15 mL まで濃縮する。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。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて溶解し、正確に 10 mL とする。

② 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、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て 40℃以下で約 15 mL まで濃縮する。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。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 *n*-ヘキサンを加えて溶解し、正確に 10 mL とする。

③ 茶の場合

試料 5.00 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、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て 40℃以下で約 15 mL まで濃縮する。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°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて溶解し、正確に 10 mL とする。

2) 精製

① 果実、野菜、穀類、豆類及び種実類の場合

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (1,000 mg) に *n*-ヘキサン 20 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 1 mL 注入した後、*n*-ヘキサン 20 mL を注入し、流出液を捨てる。次いでアセトン及び *n*-ヘキサン (2 : 3) 混液 10 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水 (1 : 1) 混液に溶解し、果実及び野菜の場合は正確に 4 mL、穀類、豆類及び種実類の場合は正確に 2 mL としたものを試験溶液とする。

② 茶の場合

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (1,000 mg) に *n*-ヘキサン 20 mL を注入し、流出液は捨てる。グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサン (2 : 3) 混液 20 mL を注入し、流出液は捨てる。合成ケイ酸マグネシウムミニカラムに、1) で得られた溶液を 1 mL 注入した後、*n*-ヘキサン 20 mL を注入し、流出液を捨てる。合成ケイ酸マグネシウムミニカラムの下にグラファイトカーボンミニカラムを接続し、アセトン及び *n*-ヘキサン (2 : 3) 混液 10 mL を注入し、溶出液を採る。次いで、合成ケイ酸マグネシウムミニカラムを取り外し、グラファイトカーボンミニカラムにアセトン及び *n*-ヘキサン (2 : 3) 混液 10 mL を注入し、先の溶出液に合わせる。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水 (1 : 1) 混液に溶解し、正確に 1 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ジニコナゾール標準品のアセトニトリル及び水 (1 : 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 0.01 mg/kg に相当する試験溶液中の濃度は 0.005 mg/L である。

6. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、5 の検量線でジニコナゾールの含量を求める。

7. 確認試験

LC-MS/MS により確認する。

8. 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%ギ酸混液（1：9）から（9：1）までの濃度勾配を10分間で行い、10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 326、プロダクトイオン 159、70

注入量：10 µL

保持時間の目安：12分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

ジニコナゾールを試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。穀類、豆類及び種実類についてはアセトニトリル/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する。茶など葉緑素を多く含む農産物についてはさらにグラファイトカーボン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

果実及び野菜において色素等の精製が不十分な場合は、グラファイトカーボンミニカラムを用いた追加精製をするとよい。以下に操作概要を示す。なお、茶の方法を用いて精製することも可能である。

グラファイトカーボンミニカラム（500 mg）にアセトン及び*n*-ヘキサン（2：3）混液 20 mLを注入し、流出液は捨てる。合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（1,000 mg）精製後の溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトン及び*n*-ヘキサン（2：3）混液 2 mLに溶解し、グラファイトカーボンミニカラムに注入する。次いで、アセトン及び*n*-ヘキサン（2：3）混液 20 mL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及び水（1：1）混液に溶解し、正確に4 mLとしたものを試験溶液とする。

11. 参考文献

なし。

12. 類型

C