

クレトジム分析法（農産物）

1. 分析対象化合物

・*m*-クロロ過安息香酸によって、(±)-2- [(*EZ*)-1- [(*E*)-3-クロロアリロキシイミノ] プロピル] -5- [2- (エチルスルホニル) プロピル] -3-ヒドロキシシクロヘクス-2-エノン (以下、代謝物C という) 若しくは (±)-2- [(*EZ*)-1- [(*E*)-3-クロロアリロキシイミノ] プロピル] -5- [2- (エチルスルホニル) プロピル] -3,5-ジヒドロキシシクロヘクス-2-エノン (以下、代謝物O という) に酸化されるクレトジム及びその代謝物

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

メタノール、アセトニトリル、酢酸エチル : 残留農薬試験用

チオ硫酸ナトリウム五水和物、無水硫酸ナトリウム、硫酸、*m*-クロロ過安息香酸、塩化ナトリウム : 試薬特級

ギ酸、0.1%ギ酸含有アセトニトリル : LC/MS用

水 : Milli-Q Integral (メルク製) で精製したもの

ガラス繊維ろ紙 : GFP (桐山製作所製)

サンプル前処理用フィルター : Econofilter PTFE 13 mm、0.2 µm (Aglient 製)

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

磨砕均一化した試料10 gにメタノール100 mLを加えて30分間振とう抽出した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を50 mLのメタノールで洗浄し、同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、メタノールを加えて200 mLに定容する。定容液10 mLをナス型フラスコに取り、40°C以下で濃縮し、メタノールを留去する。

2) 酸化反応

1) で得られた濃縮液に酢酸エチル30 mL、3 mol/L硫酸1 mLを加えた後1 vol% *m*-クロロ過安息香酸含有酢酸エチル溶液5 mLを加え密栓し、50°Cの水浴中で軽く振とうしながら2分間反応させてクレトジム及び (±)-2- [(*EZ*)-1- [(*E*)-3-クロロアリロキシイミノ] プロピル] -5- [2- (エチルスルフィニル) プロピル] -3-ヒドロキシシクロヘクス-2-エノン (以下、代謝物Bという)

を代謝物Cに、(±)-2- [(EZ)-1- [(E)-3-クロロアリロキシイミノ] プロピル]-5- [2- (エチルチオ) プロピル]-3,5-ジヒドロキシシクロヘクス-2-エノン (以下、代謝物Mという) 及び (±)-2- [(EZ)-1- [(E)-3-クロロアリロキシイミノ] プロピル]-5- [2- (エチルスルフィニル) プロピル]-3,5-ジヒドロキシシクロヘクス-2-エノン (以下、代謝物Nという) を代謝物Oに変換する。反応液に直ちに10%チオ硫酸ナトリウム水溶液30 mLを加え5分間振とうして反応を停止する。

3) 精製

反応液を分液漏斗に移し、塩化ナトリウム 15 g、水50 mL及び酢酸エチル 70 mLを加えて5分間振とうする。静置分離後、酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムに通過させ、ナス型フラスコに受ける。水層に酢酸エチル100 mLを加えて同様の操作を行い、酢酸エチル層を合わせ、40°C以下で減圧濃縮し窒素ガスで乾固する。測定直前に残留物をアセトニトリル及び水 (8 : 2) 混液25 mLに溶解し、サンプル前処理用フィルターを通して試験溶液とする。

5. 検量線の作成

代謝物Cおよび代謝物Oの標準品をアセトニトリルに溶解し各200 mg/Lを含む混合標準原液を調製する。調製した標準原液をアセトニトリルで希釈して1 mg/Lの混合標準液を調製する。これをアセトニトリル及び水 (8 : 2) 混液で段階希釈して検量線用の混合標準液を数点調製し、それぞれLC-MS/MSに注入し、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各化合物0.0002 mg/L (クレトジム換算) である。

6. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、5. の検量線を用いて代謝物C及び代謝物Oの含量を求める。さらに次式によりクレトジムの含量を求める。

$$\text{クレトジム (代謝物を含む) の含量 (ppm)} = C \times 0.92 + O \times 0.88$$

C : 代謝物Cの含量 (ppm)

O : 代謝物Oの含量 (ppm)

7. 測定条件

| | |
|---------|---|
| カラム | : ACQUITY UPLC HSS C18 (Waters 製) (内径2.1 mm×長さ100 mm、粒径1.8 μm) |
| 溶離液 | : 0.1 vol%ギ酸水溶液及び0.1 vol%ギ酸含有アセトニトリル (7 : 3) 混液 |
| 流速 | : 0.4 mL/分 |
| カラム温度 | : 40°C |
| 保持時間の目安 | : 代謝物C 2.6 分 代謝物O 2.1 分 |

