

## 1-ナフタレン酢酸試験法（農産物）

### 1. 分析対象化合物

1-ナフタレン酢酸（抱合体を含む）

### 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。

1-ナフタレン酢酸標準品 本品は1-ナフタレン酢酸95%以上を含む。

### 4. 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1 mol/L塩酸5 mL及びアセトン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た後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトンで正確に200 mLとする。この20 mLを採り、40°C以下で約3 mLまで濃縮した後、水を加えて約10 mLとする。

##### ② 果実及び野菜の場合

試料20.0 gに1 mol/L塩酸5 mL及びアセトン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た後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトンで正確に200 mLとする。この10 mLを採り、40°C以下で約1 mLまで濃縮した後、水を加えて約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1 mol/L塩酸5 mL及びアセトン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た後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトンで正確に200 mLとする。この40 mLを採り、40°C以下で約6 mLまで濃縮した後、水を加えて約10 mLとする。

#### 2) 加水分解

1) で得られた溶液に3 mol/L塩酸5 mL及びアセトン5 mLを加え、80°Cで18時間放置する。反応液に10 w/v%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、ジエチルエーテル50 mLで2回振とう抽出する。ジエチルエーテル層を合わせ、2 w/v%リン酸水素二カリウム溶液50 mLで2回振とう抽出する。水層を合わせ、3 mol/L塩酸でpH2以下に調整した後、ジエチルエーテル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、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。茶以外の場合は、この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサン（3 : 17）混液5 mLを加えて溶かす。茶の場合は、この残留物にアセトン5 mLを加えて溶かす。

#### 3) 精製

##### ① 茶以外の場合

シリカゲルミニカラム (690 mg) にアセトン及び $n$ -ヘキサン各5 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに2) で得られた溶液を注入した後、アセトン及び $n$ -ヘキサン (3 : 17) 混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン、酢酸及び $n$ -ヘキサン (5 : 1 : 95) 混液20 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2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液及びメタノール (7 : 3) 混液に溶解し、正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

## ② 茶の場合

### a) グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム (250 mg) にアセトン5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに2) で得られた溶液を注入した後、アセトン25 mLを注入し、全溶出液を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 (3 : 17) 混液5 mLを加えて溶かす。

### b) シリカゲルカラムクロマトグラフィー

シリカゲルミニカラム (690 mg) にアセトン及び $n$ -ヘキサン各5 mLを順次注入し、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、アセトン及び $n$ -ヘキサン (3 : 17) 混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン、酢酸及び $n$ -ヘキサン (5 : 1 : 95) 混液20 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2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液及びメタノール (7 : 3) 混液に溶解し、正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

## 5. 検量線の作成

1-ナフタレン酢酸標準品の2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液及びメタノール (7 : 3) 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1-ナフタレン酢酸の含量を求める。

## 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2.0 mm、長さ150 mm、粒子径5  $\mu$ m

カラム温度 : 40°C

移動相 : 2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液及びメタノール混液 (7 : 3) で16分間保持した後、(3 : 7) までの濃度勾配を0.1分間で行い、4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 185、プロダクトイオン 141

注入量 : 10  $\mu$ L

保持時間の目安 : 13分

## 9. 定量限界

0.01 mg/kg

## 10. 留意事項

### 1) 試験法の概要

1-ナフタレン酢酸（抱合体を含む）を試料から塩酸酸性下でアセトンで抽出する。抱合体を塩酸酸性下で加水分解した後、ジエチルエーテルに転溶する。転溶した溶液からリン酸水素二カリウム溶液に転溶した後、これを再び塩酸酸性下でジエチルエーテルに転溶する。茶以外はそのまま、茶はグラファイトカーボンミニカラムで精製後、いずれもシリカゲル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 加水分解は密栓して行う。
- ② LC-MS/MS測定で、連続注入する際に、直前に注入した試料からの妨害ピークの影響で測定が困難な場合はカラム洗浄してから測定すると良い。
- ③ 1-ナフタレン酢酸のLC-MS/MS測定で、試験法開発時には測定条件に示したイオン以外に有効な測定イオンが見いだせなかったため、必要に応じて以下の条件を確認に用いると良い。
  - カラム：フェニルシリル化シリカゲル 内径2.1 mm、長さ150 mm、粒子径5 µm
  - カラム温度：40°C
  - 移動相：2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液及びアセトニトリル混液（9：1）で5分間保持した後、（1：1）までの濃度勾配を10分間で行い、（1：1）で4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 185、プロダクトイオン 141
  - 保持時間の目安：10分

## 11. 参考文献

1-ナフタレン酢酸ナトリウム農薬抄録

## 12. 類型

C