

プロファム試験法

1. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。
なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトニトリル 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

アセトン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500mg) 内径8～9 mmのポリエチレン製のカラム管に、エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル500mg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。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000mg) 内径12～13mmのポリエチレン製のカラム管に、オクタデシルシリル化シリカゲル1,000mg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。

ギ酸アンモニウム ギ酸アンモニウム (特級)

ジエチレングリコール 純度98%以上の試薬を用いる。

n-ヘキサン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

水 蒸留水、精製水、純水等の化学分析に適したものを用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

メタノール 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含まないものを用いる。

3. 標準品

プロファム 本品はプロファム98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 穀類、豆類及び種実類の場合

試料10.0 g に水20mLを加え、30分間放置する。これにアセトン100mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mLを加えてホモジナイズし、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mLとする。この溶液から正確に20mLを分取し、40℃以下で約3 mLまで濃縮する。これに

10w/v%塩化ナトリウム溶液100mLを加え、n-ヘキサン100mL及び50mLで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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、2 vol%ジエチレングリコール・アセトン溶液0.2mLを加え、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30mLを加え、n-ヘキサン飽和アセトニトリル30mLずつで2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。この残留物にアセトン4 mLを加えて溶かし、水16mLを加える。

② 果実及び野菜の場合

試料20.0 g にアセトン100mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mLを加えてホモジナイズし、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mLとする。この溶液から正確に10mLを分取し、40℃以下で約2 mLまで濃縮する。これに10w/v%塩化ナトリウム溶液100mLを加え、n-ヘキサン100mL及び50mLで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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、2 vol%ジエチレングリコール・アセトン溶液0.2mLを加え、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン4 mLを加えて溶かし、水16mLを加える。

③ 茶及びホップの場合

試料5.00 g に水20mLを加え、30分間放置する。これにアセトン100mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mLを加えてホモジナイズし、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mLとする。この溶液から正確に40mLを分取し、40℃以下で約6 mLまで濃縮する。これに10w/v%塩化ナトリウム溶液100mLを加え、n-ヘキサン100mL及び50mLで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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、2 vol%ジエチレングリコール・アセトン溶液0.2mLを加え、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン4 mLを加えて溶かし、水16mLを加える。

④ 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、乳及び卵並びに魚介類の場合

試料10.0 g にアセトン100mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mLを加えてホモジナイズし、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200mLとする。この溶液から正確に20mLを分取し、40℃以下で約3 mLまで濃縮する。これに10w/v%塩化ナトリウム溶液100mLを加え、n-ヘキサン100mL及び50mLで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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、2 vol%ジエチレングリコール・アセトン溶液0.2mLを加え、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30mLを加え、n-ヘキサン飽和アセトニトリル30mLず

つで2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。この残留物にアセトン4 mLを加えて溶かし、水16 mLを加える。

⑤ はちみつの場合

試料10.0 g に水20 mLを加えて溶かす。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、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に20 mLを分取し、40℃以下で約3 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。抽出液を合わせ、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、2 vol%ジエチレングリコール・アセトン溶液0.2 mLを加え、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン4 mLを加えて溶かし、水16 mLを加える。

b 精製法

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にアセトニトリル10 mL並びにアセトン及び水の混液 (1 : 4) 10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にアセトニトリル及び水の混液 (7 : 3) 10 mLを注入し、流出液は捨てる。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムに a 抽出法で得られた溶液を注入した後、更にアセトニトリル及び水の混液 (1 : 4) 10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、このカラムの下部にエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムを接続し、アセトニトリル及び水の混液 (7 : 3) 10 mLを注入し、溶出液を分取し、アセトニトリル及び水の混液 (7 : 3) を加えて正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 操作法

a 検量線の作成

プロファム標準品のアセトニトリル及び水の混液 (7 : 3) の溶液を数点調製し、それぞれ液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計に注入し、ピーク高法又はピーク面積法により検量線を作成する。なお、4. 試験溶液の調製に従って試験溶液を調製した場合には、試料中0.01 mg / kgに相当する試験溶液中濃度は、0.001 mg / Lである。

b 定量試験

試験溶液を液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計に注入し、a 検量線の作成によりプロファムの含量を求める。

c 確認試験

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計により確認する。

d 測定条件

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2.1mm、長さ150mm、粒子径3 μ m

カラム温度：40°Cに保持する。

移動相：2 mmol/Lギ酸アンモニウム溶液及びメタノールの混液（1：1）から（1：9）までの濃度勾配を10分間で行う。

イオン化モード：エレクトロスプレーイオン化法 ポジティブイオンモード

主なイオン（m/z）：

プリカーサーイオン180、プロダクトイオン138、120

注入量：5 μ L

保持時間の目安：8分